biologia plantarum

ACADEMIA SCIENTIARUM BOHEMOSLOVENICA

TOMUS III
1

PRAHA 1961

COMMONWEALTH MYC
9 APR 1962

biologia plantarum

Časopis pro experimentální botaniku
Journal for Experimental Botany
Журнал экспериментальной ботаники
Zeitschrift für experimentelle Botanik

Hlavní redaktor akademik B. Němec

Redakční rada: akademik C. Blattný, J. Brčák, I. Cetl, A. Činčerová, I. Hršel, K. Hrubý, J. Kloz, Z. Landa, M. Luxová, akademik S. Prát V. Rypáček, B. Slavík, výkonný redaktor, M. Sosna

Za překlady zodpovídají: G. Färber, A. Ridesová, J. B. Rodendorfová, M. Vilbrová

Editor-in-Chief: B. Němec, Member of the Czechoslovak Academy of Sciences

Editorial Board: C. Blattný, Member of the Czechoslovak Academy of Sciences, J. Brčák, I. Cetl, A. Činčerová, I. Hršel, K. Hrubý, J. Kloz, Z. Landa, M. Luxová, S. Prát, Member of the Czechoslovak Academy of Sciences, V. Rypáček, B. Slavík, Editorial Secretary, M. Sosna

Foreign Language Editors: G. Färber, A. Ridesová, J. B. Rodendorfová, M. Vilbrová

Главный редактор академик Б. Немец

Редакционный совет: академик Ц. Блаттны, Я. Брчак, И. Гршел, К. Грубы, И. Клоз, З. Ланда, М. Луксова, академик С. Прат, В. Рыпачек, Б. Славик, ответственный редактор, М. Сосна, И. Цетл, А. Чинчерова

Переводы на иностранные языки: М. Вильброва, А. Ридесова, Е. Б. Родендорф, Г. Фербер

Hauptredakteur: B. Němec, Mitglied der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften

Redaktionsrat: C. Blattný, Mitglied der Tschsl. Akademie d. Wissenschaften, J. Brčák, I. Cetl, A. Činčerová, I. Hršel, K. Hrubý, J. Kloz, Z. Landa, M. Luxová, S. Prát, Mitglied der Tschsl. Akademie d. Wissenschaften, V. Rypáček, B. Slavík, Redaktionssekretär, M. Sosna

Redaktion der fremdsprachigen Übertragungen: G. Färber, A. Ridesová, J. B. Rodendorfová, M. Vilbrová

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

3 (1) : 1—14, 1961

Changes in Glucose and Fructose Level in *Nicotiana alata* Styles and Ovaries Accompanying Compatible and Incompatible Pollen Tube Growth

JAROSLAV TUPÝ

Department of Plant Physiology, Institute of Biology
Czechoslovak Academy of Sciences, Praha*

Received March 12, 1960

Změny v hladině glukosy a fruktosy ve čnělkách a semenících *Nicotiana alata*, vyvolané růstem kompatibilních a inkompatibilních pylových láček

Jestliže byly pokusné květy den před opylením odděleny od rostliny a inkubovány ve vodě za teploty 25° C, projevil se v jejich pestících během následujících tří dnů růst pylových láček v hladině glukosy a fruktosy. Prvý den po opylení bylo množství těchto cukrů v apikálních částech čnělek z neopylených květů vyšší, v basálních úsecích a v semenících naopak většinou nižší než v příslušných částech květů opylených. V dalších dvou dnech došlo i zde v případě opylení, a to především po allogamii, k silnějšímu úbytku obou glycidů, takže po třetím dnu bylo glukosy a fruktosy nejvíce v pestících neopylených, nejméně po kompatibilním sprášení. Tento pokles byl nejvýraznější v semenících, i když do nich ani kompatibilní láčky ještě nepronikly. V pokusech, kdy byly květy ponechány na rostlinách kultivovaných v polních podmínkách, nedošlo v jejich pestících ani 80 hodin po kompatibilním opylení ke snížení obsahu glukosy a fruktosy.

Z uvedených skutečností lze vyvodit tyto závěry: Růst láček čnělkou vyvolává zvýšený přísun glycidů do celých pestíků. Jak kompatibilní, tak inkompatibilní láčky využívají cukry z čnělkového pletiva. Oba tyto jevy jsou intenzívnější po allogamii než v případě inkompatibilní autogamie. Vzhledem k tomu, že kompatibilní láčky rostly normálně čnělkou i za snížené hladiny glukosy a fruktosy, není absolutní zvýšení obsahu těchto cukrů v pestících pro růst láček nezbytné.

V opylených čnělkách se mění poměr glukosa/fruktosa ve prospěch glukosy. Hodnota tohoto kvocientu se zvyšuje jak v apikálních, tak v basálních částech čnělek především po opylení kompatibilním. Tento jev je v souladu s hypothesou uvedenou dříve (TUPÝ 1959, 1960 podle níž pylové láčky prodýchávají hlavně sacharosu a z ní především její fruktofuranosovou složku.

* *Address*: Biologický ústav ČSAV, Na cvičišti 2, Praha-Dejvice.

Summary

If the flowers for experiment were separated from the plants one day before pollination and incubated in water at a temperature of 25° C, pollen tube growth in the pistils made itself apparent during the following three days in the glucose and fructose level. On the first day after pollination the amount of these sugars in the apical style parts was higher in non-pollinated flowers, while on the other hand, in most cases it was lower in the basal sections and ovaries than in the corresponding parts of pollinated flowers. During the next two days there was a greater loss of both carbohydrates where pollination, particularly allogamy, occurred, so that after the third day the glucose and fructose level was highest in the non-pollinated pistils and lowest after compatible pollination. This decrease was most pronounced in the ovaries even though the compatible tubes had not yet penetrated into them. In experiments in which the flowers were left on plants cultivated under field conditions, a decrease in the glucose and fructose content of their pistils had not occurred even 80 hours after compatible pollination.

From these facts the following conclusions can be drawn: The growth of the tubes through the styles causes an increased inflow of carbohydrates into the whole pistils. Both compatible and incompatible tubes use sugars from the style tissue. Both these phenomena are more intense after allogamy than in the case of incompatible autogamy. In view of the fact that compatible tubes grew normally through the styles even with a lowered glucose and fructose level, an absolute rise in the content of these sugars in the pistils is not necessary for tube growth.

The proportion of glucose/fructose in pollinated styles changes in favour of glucose. The value of this quotient rises both in the apical and basal style parts mainly, however, after compatible pollination. This phenomena is in agreement with the previous hypothesis (Tupý 1959, 1960), according to which, in the respiratory process, pollen tubes consume mainly sucrose and from this, primarily its fructofuranose component.

Introduction

Assuming the proof of the direct dependence of the carbohydrate nutrition of pollen tubes on the environment not only in vitro (O'Kelley 1955, Tupý 1960 — in press), but also in vivo (Linskens and Esser 1959), it is possible to assume that the disturbance in the exogenous consumption of carbohydrates by the tubes is connected with the physiological basis of their incompatible inhibition. The existence of such a relation is shown by the fact that the tubes from smaller pollen grains of one *Petunia* mutant called defecta are more inhibited during growth through the styles than pollen tubes grown from grains with an identical genetic basis for autosterility, though with the normal amount of reserve substances (Eue 1953). It was further ascertained that after illegitimate pollination in the heterostyled species *Lythrum sali-*

caria, diploid tubes from large pollen grains grow a longer way through the diploid style than those of smaller haploid grains (ESSER 1953) and finally the dependence of the localisation of the incompatible reaction on the amount of reserve substances in pollen derived from its cytological properties (BREWBAKER 1957) shows the above relation. By direct observation of normal growth conditions of pollen tubes through the style, POLYAKOV (1949) discovered that in pistils and especially in styles of flowers, both isolated and left on the plants of marrow, there is a substantial rise in the soluble carbohydrate level during the growth of the tubes. He regards these changes in the pistil as regular and necessary for the normal development and nutrition of the pollen tubes. On the other hand, a quantitative analysis of glucose, fructose and saccharose in the styles of isolated *Petunia* flowers showed that the level of these sugars markedly decreased in the styles through which both compatible and incompatible pollen tubes were growing (LINSKENS 1955). From both the last quoted works it follows that basically two opposing processes are occurring with increasing intensity in the pollinated styles namely, the mobilisation of carbohydrates and their consumption. Whichever of these processes predominates, depends certainly not only on the material, but also on the conditions of the experiment. The question is less clear, however, whether an absolute increase in carbohydrates is necessary for the normal growth of the tubes and if so, whether the slower growth of incompatible tubes is not caused by an insufficient rise in the content of these substances, or whether compatible tubes grow through the styles normally even at a reduced sugar level.

The aim of the work submitted was to bring further light on these relations. In the styles and ovaries of the experimental plants the soluble carbohydrates are mainly represented by glucose and fructose. Therefore, our attention was given chiefly to these sugars. Besides the changes in their levels, their mutual proportion was also followed on the supposition that in their respiratory processes, pollen tubes consume mainly the fructofuranose component of sucrose (TUPÝ 1959, 1960). In this way an accumulation of callose can appear in the tubes as well as a relatively higher glucose level and thus a change in the proportion of glucose/fructose in the pollinated styles.

Material and Methods

Autosterile *Nicotiana alata* LINK et OTTO plants were used as experimental material. To obtain at least quantitative discrimination of the mobilisation and consumption of sugar in the styles following different pollinations, it was necessary to change at least one of these processes. Therefore, two groups of experiments were undertaken, first on isolated flowers from plants cultivated in a glasshouse (experiments 1a and 1b), and secondly on flowers left on plants growing in favourable field cultivation conditions (experiments 2a and 2b). A decreased inflow of carbohydrates to the pollinated pistils was presumed in the first case as against normal conditions in the second group of experiments.

ad 1a, 1b. The experimental plants were represented by two families (A, B) of cca 40 plants taken during the first month after the commencement of flowering. There were approximately 25 flowers in one experimental variant and these were from at least 15 plants gathered at the beginning of anthesis and taken at the base of the flower axis. Immediately after picking, the

flowers were placed in a dish of water. About 70 flowers from each of three basic variants were picked at the same time—compatible pollinated (25 specimens)— incompatible pollinated (25 specimens) and non-pollinated (20 specimens). Such a selection was carried out three times in every experiment at three different time intervals — 1, 2 and 3 days after pollination. After their removal from the glasshouse, the flowers were placed out in dishes of water at a thermostatically controlled temperature of 25° C. They were pollinated approximately one-day later. In experiment 1a there was a compatible combination of the families A × B and in experiment 1b it was reciprocal. For allogamy, pollen was taken from flowers of one plant while for autogamy pollen was taken from the flowers to be pollinated. For the pollination of ten flowers, about 4·22 mg. of pollen ($\bar{x} \pm 3 \,.\, s_{\bar{x}} = 4{\cdot}22 \pm 3 \,.\, 0{\cdot}22$ — the average from 5 tests of 10 flowers each) was used.

At the end of the incubation period, the ovaries and styles with stigmas (further referred to as styles) were removed from the flowers and washed in distilled water. Five compatible pollinated styles and 5 incompatible pollinated styles, which were set apart for ascertaining the position of the pollen tubes, were placed in a refrigerator (cca —15° C). The remaining styles were divided into apical and basal parts in which the length of the apical part was fixed at 25 mm. Homogenous 33% preparations was made from the ovaries and both parts of the styles by crushing them with 70% ethyl alcohol. Homogenisation was carried out in the cold for a period of three minutes. After this, the homogenate was poured into centrifuge tubes, left for about two hours in the cold, centrifuged and stored in a refrigerator until further needed.

ad 2a, 2b. Castrated and isolated flowers on the chosen plants were pollinated as a rule in the afternoon to evening hours when the flowers open up. The time variants here were 20, 40, 60 and 80 hours from pollination. The average daily temperature for each day of these experiments is given in tab. 1. Each variant contained 50 flowers from 3 to 5 plants. About 120 flowers were taken at one time into each experiment, 60 of which were pollinated allogamically and 60 with pollen from the same plant. The method of further work on the flowers was basically the same as in experiment 1a and 1b.

Glucose and fructose were quantitatively determined after being chromatographically separated on Whatman No. 1 paper in n-butanol—acetic acid—water (4 : 1 : 5), by the method based on detection with the solution of 2,3,5-triphenyltetrazoliumchloride and colorometric evaluation of the eluted formasan (Wallenfels, Bernt, Limberg 1953, Fischer and Dörfel 1954). A determination was carried out twice for both sugars in each sample.

The length of the pollen tubes was ascertained on the crushed preparation stained with resorcin blue (Tupý 1959).

Acknowledgement.

The very able technical assistance of Miss Jarmila Veverková is gratefully acknowledged.

Table 1

Experiment	Hours after pollination	Average temperatures for each day of the experiments in °C			
		1	2	3	4
2a	20	22·8	19·6	—	—
	40	19·0	19·6	22·8	—
	60	16·7	20·0	19·8	22·4
	80	19·5	18·2	19·0	19·6
2b	20	14·3	12·8	—	—
	40	14·0	16·3	17·9	—
	60	15·0	13·8	14·4	14·0
	80	17·4	15·0	13·8	14·4

Results

The location of the pollen tubes in each part of the style at different phases after pollination is clearly illustrated in fig. 1 to 4. The growth of the compatible tubes was normal even in the styles of flowers separated from plants where the glucose and fructose levels were markedly decreased on the third day after pollination.

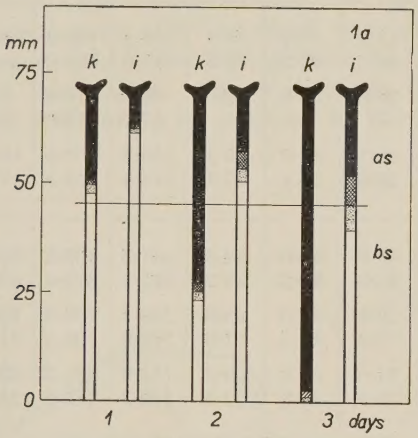


Fig. 1.

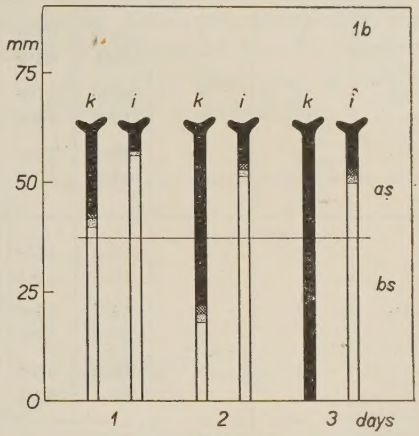


Fig. 2.

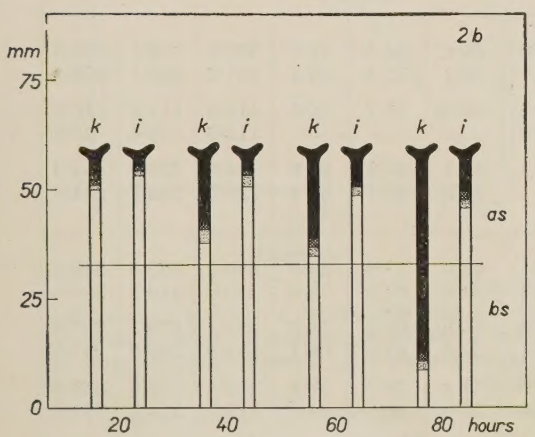


Fig. 3.

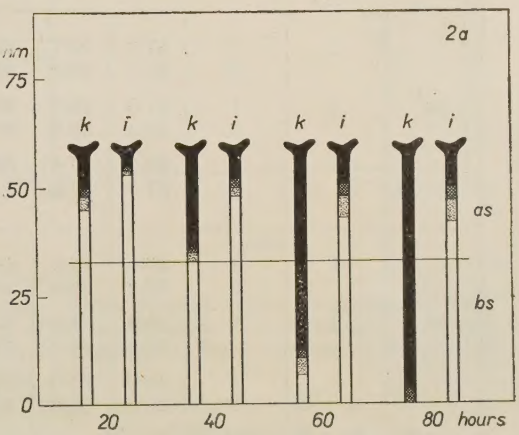


Fig. 4.

Fig. 1 to 4.
Dispersal of pollen tubes in styles of *Nicotiana alata* at various periods after pollination. K = compatible pollination, i = incompatible pollination, as = apical parts of styles, bs = basal parts of styles. Experiments denoted in the top righthand corner.

Table 2. Amount of glucose and fructose in separate parts of pistils of *Nicotiana alata* during growth of pollen tubes through styles expressed in μg per corresponding part

Experiment	Days after pollination	Determination	1 as	2 as	3 as	1 bs	2 bs	3 bs	1 o	2 o	3 o
Glucose											
1a	1	1	55·8	57·0	66·9	41·2	38·4	38·1	393·1	409·0	345·6
		2	59·1	69·8	71·0	40·2	37·2	37·5	419·0	409·0	345·6
	2	1	36·0	37·8	37·5	30·6	24·0	23·9	80·6	76·3	70·3
		2	45·3	40·8	40·5	—	—	—	67·7	72·0	56·4
	3	1	39·0	28·5	39·9	23·7	30·0	25·1	126·8	158·4	185·8
		2	44·1	30·8	40·5	24·6	32·4	27·1	112·3	169·9	185·8
1b	1	1	45·0	45·6	47·3	46·0	40·0	34·8	341·3	403·2	328·3
		2	40·4	43·1	42·5	38·0	39·2	31·2	299·5	373·0	334·1
	2	1	54·7	57·8	60·0	29·6	42·6	48·8	213·1	208·8	231·8
		2	52·8	56·0	63·0	37·3	42·3	51·0	203·0	195·8	218·9
	3	1	40·4	42·0	42·0	31·0	31·0	29·2	154·6	225·6	233·3
		2	40·4	38·4	39·6	31·0	29·8	27·6	149·3	213·6	235·2
Fructose											
1a	1	1	47·9	55·7	53·0	60·6	54·6	48·0	362·9	362·1	339·8
		2	50·0	53·9	58·7	56·4	57·6	50·4	367·2	362·1	339·8
	2	1	27·3	23·7	33·3	38·3	34·2	36·3	112·3	115·2	110·2
		2	30·3	26·9	36·6	—	—	—	112·3	109·4	98·6
	3	1	30·0	27·8	38·0	22·1	35·3	38·6	144·0	220·0	241·9
		2	27·5	27·5	37·7	24·5	37·1	39·4	129·6	243·7	244·8
1b	1	1	39·0	41·0	44·1	62·0	57·2	59·6	390·2	462·3	385·2
		2	33·8	36·8	42·3	68·8	61·0	70·6	400·4	410·3	398·0
	2	1	36·3	45·9	55·8	54·0	63·8	70·2	262·1	270·7	267·8
		2	33·6	47·4	57·3	57·5	63·8	68·1	244·8	259·2	241·9
	3	1	24·0	31·0	36·0	24·4	29·8	39·4	182·4	253·4	289·0
		2	25·6	35·0	39·0	22·8	30·8	44·6	178·6	278·4	304·8

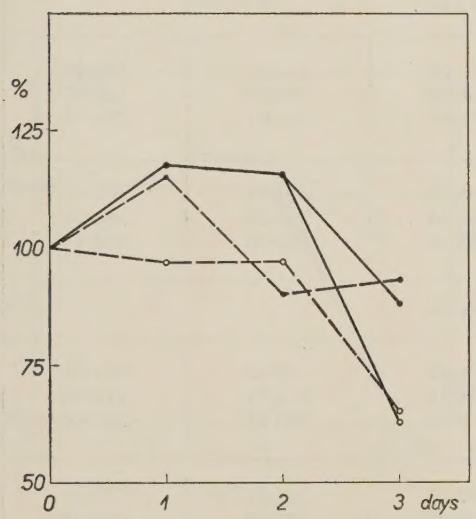
1 = pollinated compatible
2 = pollinated incompatible
3 = nonpollinated

as = apical part of the style
bs = basal part of the style
o = ovary

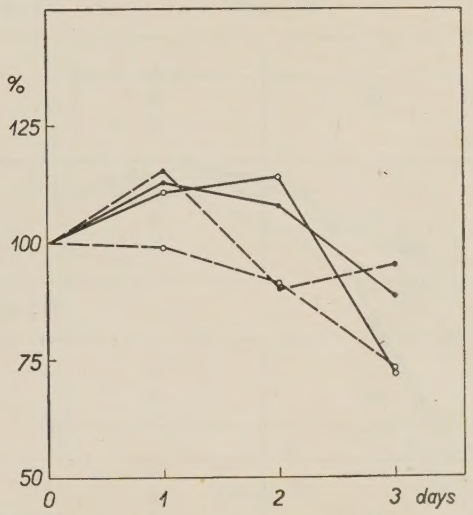
The results of the glucose and fructose analysis in experiments 1a and 1b are given in tab. 2 and 3. Changes in the relative amount of both sugars in the pollinated parts of the pistils as compared with non-pollinated parts are given in figs. 1 to 6. The absolute values are given in tab. 2 for every evalua-

tion separately, the relative ones were calculated from the average of both determinations.

In nearly every case the glucose content decreases with time. It is always lower on the third day than at the beginning of the experiment. As opposed to the non-pollinated variants, in practically every instance there is less glucose in the apical parts of pollinated styles after the first day while in the basal style parts and in the ovaries, where the tubes have not yet penetrated, the glucose level rises as a result of pollination. During the next two days the influence of pollination was not definitely apparent either in the apical or basal parts. On the third day after pollination, however, there is a most pronounced decrease of glucose in the ovaries of pollinated flowers which is most marked in cross pollination (graph 1). A similar situation is evident when comparing its content in the whole pistils (tab. 3, graph 2).



Graph 1.



Graph 2.

Graphs 1 and 2.

Influence of growth of compatible and incompatible tubes through styles on glucose content of ovaries (graph 1) and whole pistils (graph 2) of *Nicotiana alata*. Expressed as percentage of corresponding values in non-pollinated flowers (ordinates). Abscisa: number of days after pollination.

Experiment 1a cross-pollination —○—○—○— self-pollination —●—●—●—

Experiment 1b cross-pollination - -○- -○- -○- - self-pollination - -● - -● - -● - -

In the case of fructose, the effect of pollination is often more pronounced than with glucose. A decrease in the absolute fructose content of the pistils with aging of the flowers is again apparent mainly after compatible pollination. As compared with the apical parts of non-pollinated styles, the fructose content decreases in the first two days, as a result of pollination (graph 3). On the day following pollination there is more fructose as well as glucose

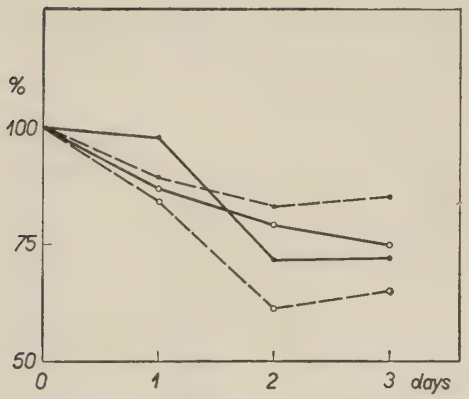
in these parts of the styles after incompatible pollination than after allogamy. In the basal style parts pollination, especially allogamic pollination, only manifests itself by a lowering of the fructose level after the second or third day (graph 6). In the ovaries of pollinated flowers there is a decrease in fructose content following its initial marked relative increase, which is again most striking after compatible pollination (graph 5). In whole pistils the relative fructose content is similar (tab. 3, graph 6).

Table 3. The average amount of glucose and fructose in pistils of *Nicotiana alata* during growth of pollen tubes through styles, expressed in μg per pistil

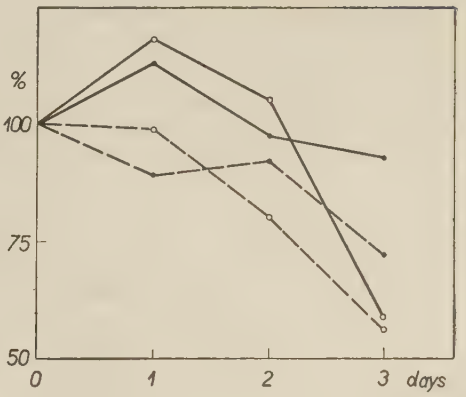
Experiment	Days after pollination	Cross-pollination	Self-pollination	Non-pollinated
Glucose				
1a	1	503·73	510·06	425·25
	2	144·69	136·89	126·21
	3	183·08	224·91	252·06
1b	1	405·72	473·61	409·0
	2	304·14	302·34	336·04
	3	223·08	289·56	303·44
Fructose				
1a	1	471·42	473·43	444·84
	2	178·62	171·72	175·08
	3	188·70	295·14	320·16
1b	1	496·26	533·97	500·88
	2	343·94	375·36	379·58
	3	228·88	329·12	376·04

The amounts of both sugars in separate parts of the pistils of flowers left on the plants for 80 hours after pollination are given in tab. 4. Changes in their content show no definite regularity. The instability of their levels is caused rather by the influence of external factors, in the first place by weather, and is obviously not caused by the pollination factor.

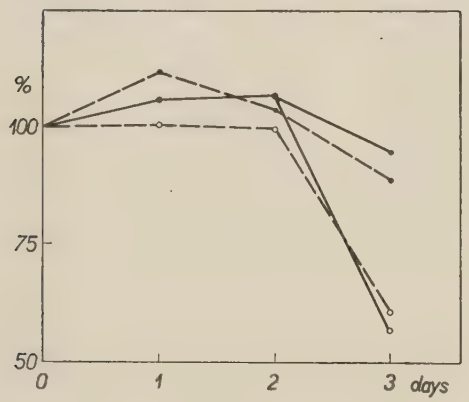
A comparison of the average glucose and fructose levels in single variants of the experiments 1a and 1b is expressed by the values Q (glucose/fructose $\times$ $\times$ 100) in graphs 7 to 10. While in all cases, there is more glucose in the apical parts of the styles, fructose mainly preponderates in the basal parts. The value Q increases during the growth of the pollen tubes through the style. Its increase in both style parts after allogamy is very striking. It remains practically at the same level in non-pollinated styles.



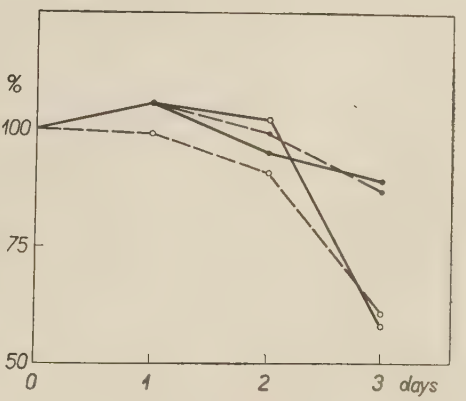
Graph 3.



Graph 4.



Graph 5.



Graph 6.

Graphs 3 to 6.

Influence of growth of compatible and incompatible pollen tubes through styles on fructose content in apical (graph 3) and basal (graph 4) parts of styles, in ovaries (graph 5) and in whole pistils (graph 6) of *Nicotiana alata*.

For explanatory notes see graphs 1 and 2.

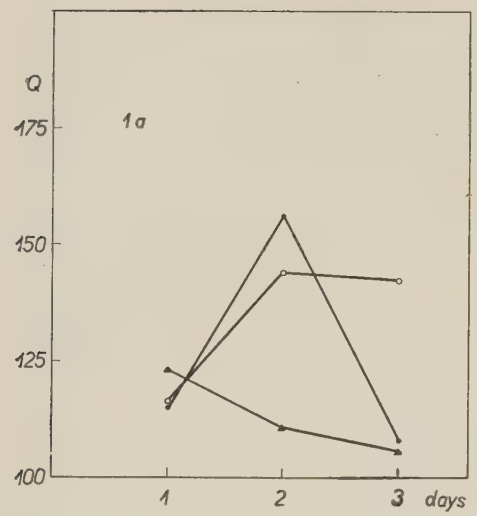
Discussion

The fact that there is a decrease in the glucose and fructose level during the growth of pollen tubes in pollinated pistils shows that the sugars are used by the pollen tubes. This is basically in agreement with the results of Linskens (1955) on autosterile *Petunia*. If the decrease is greatest in both styles and ovaries after cross pollination, we can deduce that compatible tubes absorb more carbohydrates from the style tissue than the inhibited incompatible tubes. This is in agreement with the observation that the

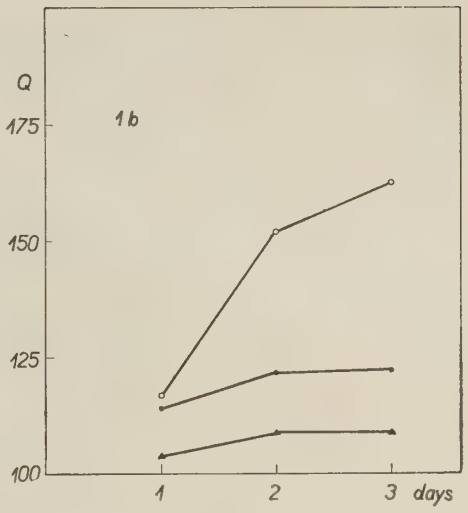
Table 4. Amount of glucose and fructose in separate parts of pistils of *Nicotiana alata* during growth of pollen tubes through styles expressed in μg per unit of corresponding part

Experiment	Hours after pollination	Determination	1 as	2 as	1 bs	2 bs	1 o	2 o
			Glucose					
2a	20	1	121	119	127	103	612	648
		2	119	109	123	97	636	684
	40	1	154	113	126	105	624	710
		2	166	143	116	96	612	624
	60	1	161	166	147	128	543	401
		2	134	153	156	137	532	396
	80	1	158	145	142	108	442	442
		2	131	121	125	108	482	482
2b	20	1	111	131	92	94	456	386
		2	111	140	104	90	454	391
	40	1	117	134	118	125	614	557
		2	116	134	108	119	617	557
	60	1	228	126	115	113	484	425
		2	228	154	113	129	450	406
	80	1	88	79	120	101	432	534
		2	67	83	116	100	468	529
			Fructose					
2a	20	1	137	126	194	153	734	745
		2	127	124	201	158	720	728
	40	1	123	131	163	148	667	737
		2	129	130	172	146	641	737
	60	1	150	155	232	187	736	520
		2	151	172	231	187	716	511
	80	1	119	120	179	149	584	529
		2	123	125	173	149	584	555
2b	20	1	119	149	154	145	512	469
		2	124	165	159	145	533	448
	40	1	151	156	165	177	683	605
		2	151	149	168	174	688	624
	60	1	247	162	180	181	594	541
		2	256	164	175	183	592	505
	80	1	76	108	186	180	503	570
		2	71	98	178	173	503	568

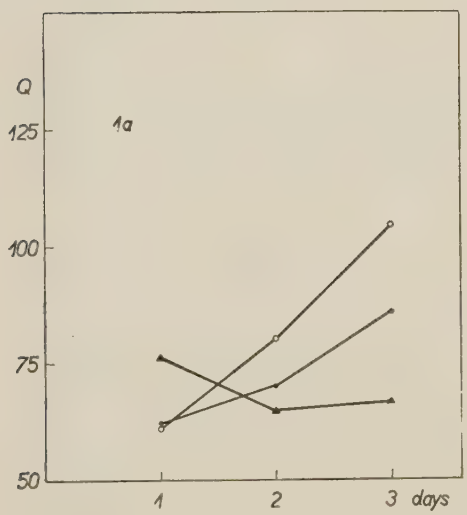
For explanatory notes see tab. 2.



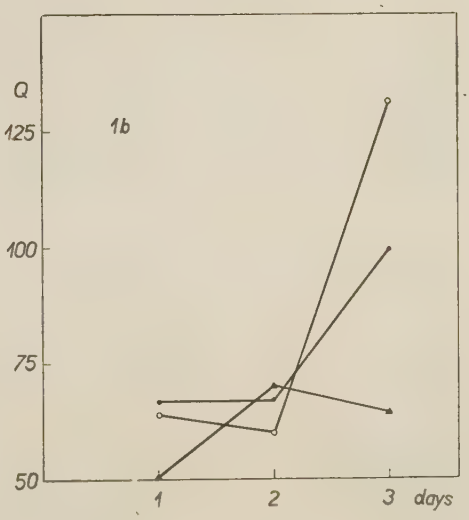
Graph 7.



Graph 8.



Graph 9.



Graph 10.

Graphs 7 to 10.

Influence of growth of compatible and incompatible pollen tubes on ratio of glucose to fructose (expressed in values Q — ordinates) in the apical (graphs 7 and 8) and basal (graphs 9 and 10) parts of styles of *Nicotiana alata*.

Abscisa: number of days after pollination.

$$Q = \frac{\text{glucose}}{\text{fructose}} \times 100$$

compatible pollinated —○—○—○— incompatible pollinated —●—●—●— without pollination —▲—▲—▲—

decrease in the rate of growth brings about a lowering in the exogenous consumption of sugars by the pollen tubes (TUPÝ 1960).

On the other hand, LINSKENS did not find a difference between the sugar content of cross and self pollinated styles. From this it may be concluded that in cross pollinated styles there is a higher mobilisation of sugars which in LINSKENS' experiments was sufficient to cover their increased consumption by compatible tubes.

The correctness of the assumption that there is an increased inflow of sugars to pollinated styles is confirmed by some further observations. One of them is the higher amount of glucose and fructose in the basal parts of the styles on the day following pollination. In these parts, which had not yet been reached by the tubes, the mobilisation of carbohydrates was more pronounced than their consumption. During the following days, the glucose and fructose levels in the ovaries of pollinated flowers, especially when cross pollinated, decreased markedly as compared with that of non-pollinated flowers. This can be taken as the result of and further evidence for the increased inflow of carbohydrates into the pollinated styles from the ovaries. In the later phases of tube growth through the style no decrease of sugars was observed when the flowers were left on the plants which, in comparison with the results on separated flowers, again points to a greater transportation of carbohydrates into the pollinated flowers which could have been brought about by their connection with the flowers.

In view of the fact that *Nicotiana* pollen tubes grow very badly in glucose and fructose solutions (O'KELLY 1955, TUPÝ 1960) and that they thus obviously have a limited ability to utilise simple sugars as a source of energy, it is possible that the tubes consume glucose and primarily fructose in respiration indirectly, through the mediation of sucrose.

Table 5. The relation of glucose to fructose in *Petunia* styles expressed in values of Q (taken from the experimental data of LINSKENS, 1955)

	First experiment (page 8)		Second experiment (page 9)	
	1st determ.	2nd determ.	1st determ.	2nd determ.
non-pollinated	88	91	75	63
self-pollination	96	104	55	67
cross-pollination	105	112	78	120

The finding that the proportion of glucose/fructose changes in pollinated styles was the incentive for the calculation of this quotient from LINSKENS' results (1955) in the quantitative analysis of the above mentioned sugars in *Petunia* styles. The values obtained (tab. 5) confirm and generalise the fact that, in styles through which the pollen tubes are growing, the glucose content increases relatively to the fructose level. One of the possible explanations of this phenomenon depends on the assumption already mentioned (TUPÝ 1959, 1960) that the basic source of carbohydrate nutrition in pollen tubes is sucrose and that they consume primarily the fructose com-

ponent of this sugar during respiration. Glucose remains partly unused and accumulates in the tubes. Upon reaching a certain level it condenses as callose which is deposited in the tubes. The longer the tubes, i.e. the faster they grow, the greater the amount of free glucose. This would explain why the quotient glucose/fructose increases more in the compatible pollinated styles than in the case of incompatible autogamy where tube growth is inhibited. It is not possible to exclude that the changes in these proportions are directly influenced by the more rapid aging of the style tissue due to pollination. In this case they would be a sign of aging in agreement with the hypothesis of Lvov (1950), according to which the power of utilising hexoses for energy metabolism is lost in aging organs leading to an increased consumption of the fructofuranose components of sucrose in respiration.

References

Brewbaker, J. L.: Pollen cytology and self-incompatibility systems in plants. — J. of Heredity **48** : 271—277, 1957.

Esser, K.: Genomverdopplung und Pollenschlauchwachstum bei Heterostylen. — Ztschr. Vererbungslehre **85** : 28—50, 1953.

Eue, L.: Über die entwicklungsphysiologischen Grundlagen der Selbststerilität bei der Mutante Defecta von *Petunia*. — Ztschr. Vererbungslehre **85** : 423—428, 1953.

Fischer, F. G., Dörpel, H.: Die quantitative Bestimmung reduzierender Zucker auf Papierchromatogrammen. — Ztschr. physiol. Chem. **297** : 164—178, 1954.

Linskens, H. F.: Physiologische Untersuchungen der Pollenschlauch-Hemmung selbststeriler Petunien. — Ztschr. Bot. **43** : 1—44, 1955.

Linskens, H. F., Esser, K.: Stoffaufnahme der Pollenschläuche aus dem Leitgewebe des Griffels. — Proc. Koninkl. Nederl. Akad. van Wattenschappen, Amsterdam, Ser. C., **62** : 150—154, 1959.

O'Kelley, J. C.: External carbohydrates in growth and respiration of pollen tubes in vitro. — Amer. J. Bot. **42** : 322—327, 1955.

Tupý, J.: Callose formation in pollen tubes and incompatibility. — Biol. Plant. **1** : 192—198, 1959.

Tupý, J.: Sugar absorption, callose formation and the rate of pollen tubes growth. — Biol. Plant. **2** : 169—180, 1960.

Wallenfels, K., Bernt, E., Limberg, E.: Quantitative Bestimmung reduzierender Zucker durch Papierchromatographie sowie eine Anwendung zur Mikrobestimmung der Blutzucker. — Angew. Chem. **65** : 581—586, 1953.

Львов, С. Д.: Основные направления в историческом развитии учения о дыхании растений. Изд. АН СССР, Москва-Ленинград, 1950. [(Lvov, S. D.: Chief trends in historical evolution of the study of plant respiration].

Поляков ,И. Н.: О некоторых условиях развития пыльцы в тканях пестика. ДАН СССР **69** : 683—686, 1949 [(Polyakov, I. N.: On some conditions of pollen tubes growth in pistil tissues].

Ярослав Тупы (Отдел физиологии растений Биологического института Чехословацкой академии наук, Прага)

Изменения в содержании глюкозы и фруктозы в пестиках и семенниках *Nicotiana alata,* сопровождающие совместимый и несовместимый рост пыльцевых трубок

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (1) : 1—14, 1961

В случае отделения подопытных цветков от растения на день раньше их опыления и культирования их в воде при температуре 25 гр. Ц. наблюдался в течение трех последующих дней рост пыльцевых трубок по показателям содержания глюкозы и фруктозы. Первый день после опыления содержание этих сахаров в апикальных частях столбиков неопыленных цветков было выше, в базальных частях и семенниках, наоборот, было в большинстве случаев ниже по сравнению с соответствующими частями опыленных цветков. В течение последующих двух дней наблюдалось более интенсивное понижение содержания обоих глицидов и в случае опыления, особенно после аллогамии, в результате чего после истечения третьего дня больше всего было глицидов в неопыленных цветках, меньше всего после совместимого опыления. Ярче всего это снижение наблюдалось в семенниках, хотя даже совместимые трубки туда еще не проникли. В опытах, в которых цветки оставлялись на растениях, выращиваемых в полевых условиях, содержание глюкозы и фруктозы не снизилось еще 80 часов спустя после их совместимого опыления.

Приведенные данные позволяют сделать следующие выводы: Рост трубок пестиком вызывает повышенный транспорт глицидов в целые пестики. Как совместимые, так и несовместимые трубки используют сахара из тканей пестиков. Оба эти явления интенсивнее в случае аллогамии чем в случае несовместимой автогамии. Так как совместимые трубки нормально прорастали и в случае пониженного содержания глюкозы и фруктозы, абсолютное содержание этих сахаров в пестиках не является необходимым условием роста трубок.

В опыленных трубках изменяется отношение глюкоза/фруктоза в пользу глюкозы. Значение этого коэффициента повышается как в апикальных, так и в базальных частях пестиков прежде всего после совместимого опыления. Это явление находится в согласии с ранее нами приведенной гипотезой (Tupý 1959, 1960), следуя которой пыльцевые трубки расходуют на дыхание прежде всего сахарозу, в частности, ее фруктозофуранозную часть.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

3 (1) : 15—28, 1961

Влияние плодов на осмотическое давление клеточного сока листьев и закладку цветочных почек у яблони

Лудвик Хвойка*

Отдел физиологии растений Биологического института ЧСАН, Прага

Поступило 24 марта 1960 г.

Vliv plodů na osmotický tlak buněčné šťávy listů a na zakládání květních pupenů u jabloně

Autor studoval v průběhu dvou let osmotický tlak 70 stromů 7 odrůd jabloně, ze kterých 5 odrůd plodí periodicky a 2 každoročně. Na začátku pokusu polovina stromů byla bez plodů a polovina s násadou plodů. Pokus byl proveden na 10 až 12letých stromech (podnož M II, M IX a M IV) v severozápadní jabloňářské oblasti Čech (Střížovice, Těchobuzice). 3 až 4krát za vegetační období byly odebírány listy brachyblastů plodících a odpočívajících jabloní a stanoven osmotický tlak jejich buněčné šťávy, jakož i její elektrická vodivost. Jednou za sežónu byly odebrány terminální pupeny brachyblastů, z kterých obyčejně vznikají květní pupeny, a zpracovány stejně jako listy.

Ze získaných údajů plyne, že rostoucí plody jsou příčinou snížení osmotického tlaku buněčné šťávy listů jabloně o 2 až 6 atmosfér v závislosti od množství násady a období. Toto snížení málo závisí na počasí a rozdíly v osmotickém tlaku buněčné šťávy jabloní plodících a odpočívajících jsou v červenci vysoce průkazné. Osmotický tlak buněčné šťávy pupenů je snižován méně: o 1 až 2 atmosféry. Byla nalezena průkazná kladná korelace mezi hodnotou osmotického tlaku odrůdy Boskoopské červené a zakládáním květních pupenů. U každoročně plodících odrůd taková korelace nebyla pozorována.

Резюме

В течение двух лет автор исследовал осмотическое давление 70 деревьев 7 сортов яблони, из которых 5 сортов плодоносит периодически и 2 сорта ежегодно. В начале опыта одна половина деревьев имела большое количество завязавшихся плодиков, другая половина была без урожая. Опыт

* *Адресс*: Ludvík Chvojka, Praha 6, Národní obrany č. 7, ЧССР.

был проведен на 10—12-летних деревьях (подвой М II, М IX и М IV) в северозападной яблоневой области Чехии (Стржижовице, Техобузице).

В период закладки цветочных почек, 3—4 раза, с июня по сентябрь отбирались листья из брахибластов плодоносящих и бесплодных яблоней и определялось осмотическое давление клеточного сока и электропроводность. Раз в сезон отбирались для исследования клеточного сока терминальные почки брахибластов, которые обычно дают начало цветочным почкам.

Из полученных данных вытекает, что растущие плоды снижают осмотическое давление клеточного сока листьев яблони на 2—6 атмосфер в зависимости от общего количества плодов на дереве и времени после цветения. Эта разница относительно постоянна при различных внешних условиях в пределах нормы. В июле месяце разница осмотических давлений статистически достоверна.

Осмотическое давление клеточного сока почек плодоносящих и бесплодных деревьев отличается только на 1—2 атм. Найдена положительная корреляция между уровнем осмотического давления клеточного сока листьев и закладкой цветочных почек у зимнего сорта Боскопский красавец красный. У ежегодно плодоносящих сортов не наблюдается такой корреляции.

Введение

Обязательным условием ежегодного плодоношения деревьев и в частности яблони является закладка цветочных почек, которые развиваются летом из вегетативных почек. Многие ценные сорта яблони плодоносят периодически через один или больше лет вследствие того, что в год обильного плодоношения растущие плоды потребляют большое количество ассимилятов и минеральных веществ с одной стороны и действуют на соотношения биокатализаторов с другой стороны. Это нежелательное влияние чрезмерного количества завязи проявляется в торможении процессов роста и развития, как это хорошо показали Туманов и Гареев (1951) и другие авторы. Интересно, что у некоторых сортов тормозящее влияние плодов на процессы закладки цветочных почек настолько сильно, что его нельзя преодолеть обычными приемами высокой агротехники, как минеральное питание, водный режим и т. д. Растущие плоды влияют на дерево многосторонне. Предварительно можно выделить 4 группы изменений:

1. изменения в содержании ассимилятов и минеральных соединений,
2. изменения в содержании ростовых веществ,
3. изменения осмотического давления клеточного сока,
4. изменения в активности ферментов.

Изменение одного из показателей вызывает соответствующие изменения остальных. Уже несколько десятилетий продолжаются поиски первоначального решающего изменения. В идеальном случае надо было бы учитывать динамику изменений всех указателей в период закладки цве-

точных почек в одинаковых условиях, на одинаковых объектах. К сожалению, до сих пор ни одна школа не осуществила комплексных исследований по физиологии и биохимии развития цветочных почек. Большинство опубликованных работ касается первой группы изменений.

В последнее время возникла новая концепция закладки цветочных почек, автором которой является Коломиец (1948, 1954, 1955, 1954), считающий концентрацию клеточного сока главным фактором закладки цветочных почек.

Изменения концентрации клеточного сока можно рассматривать как интегральный указатель скорости процессов ассимиляции и диссимиляции, поскольку повышенное потребление растворенных веществ на синтетические процессы приводит к понижению осмотического давления и наоборот. К подобным результатам могут вести также изменения гидрофильности коллоидов и эластичности клеточных стенок. В этих процессах участвуют ростовые вещества (Luckwil 1957). Наконец, между осмотическим давлением и направленностью действия ферментов не исключена двухсторонняя зависимость (Казарян, 1959, Oparin, 1937).

В настоящем сообщении приводятся некоторые результаты, полученные при проверке осмотической концепции закладки цветочных почек.

Методика и объекты

Опыты были проведены на 10—12-летних яблонях, растущих в двух взрослых садах северозападной яблоневой области Чехии (Стржижовице и Техобузице). В Стржижовицком саду мы исследовали 3 сорта периодически плодоносящие (Милтенберское, Ватервлитское, Уэлси) и один сорт ежегодно плодоносящий (Онтарио). В саду селекционной станции Техобузице мы исследовали два сорта периодически плодоносящие (Боскопский красавец красный, Ренет Берлепш) и один сорт непериодический. От каждого сорта, как правило, взяты в опыт 4 деревья с оплодотворенной завязью и 4 деревья без плодов в данном году (1958). В Техобузицком саду было от каждого сорта по 8 деревьев на подвое М II и по 8 деревьев на подвое М IX. В Стржижовицах за исключением сорта Онтарио на М IV остальные сорта были на М IX.

В 1959 году была применена следующая методика: в июне, июле и августе месяце были взяты пробы листьев в количестве 30—40 г из каждого дерева между 6—8 часом утра. Листья отбирали равномерно из четырех сторон кроны из среднего этажа разветвленных плодушек с растущими плодами (деревья плодоносящего варианта) и плодушек без плодов у деревьев бесплодного варианта. Листья отбирали в стеклянные банки с винтовой покрышкой и убивали замораживанием (банки с листьями помещены в холодильную камеру и обложены сухим льдом — CO_2). После навески 20 г убитых листьев отжали клеточный сок при помощи мосазного ручного пресса и хранили при 0 градусах Ц в закупоренных пробирках с 2—3 капельками толуола. Постепенно определяли осмотическое давление криоскопическим методом с помощью приспособленного термоса по Славику (Slavík 1952). Для определения брали по 3 мл сока и определяли 3—4 раза с точностью 0,01 градуса. После разбавления (1 : 20) измеряли электропроводность при помощи кондуктометра Шандера. Подобно определяли осмотическое давление почек с той разницей, что почки отбирали совместно из 4 деревьев каждого варианта раз в сезон.

В отличие от выше изложенной методики в 1957 и 1958 годах листья убивали 20 минутным кипячением на водяной бане в стеклянных герметически закрытых банках, содержащих пробы листьев из 4 деревьев одного варианта в одной банке. Осмотическое давление листьев убитых кипячением было выше, чем листьев убитых замораживанием, как показал контрольный опыт.

Методика определения цветочных почек: В декабре 1958 года было взято из одного дерева каждого варианта по сто почек из 4 ветвей среднего этажа, расположенных симметрически по ободу кроны. Оставляли только почки на однолетнем приросте. Бритвой от руки в продольном направлении был срезан тонкий слой клеток конуса нарастания и под микроскопом определена почка как вегетативная или генеративная. В мае месяце сравнивали результаты микроскопического определения с цветущими деревьями опытных вариантов и нашли хорошее совпадение. В следующем 1960 году в январе месяце было определено 1800 почек изложенным методом.

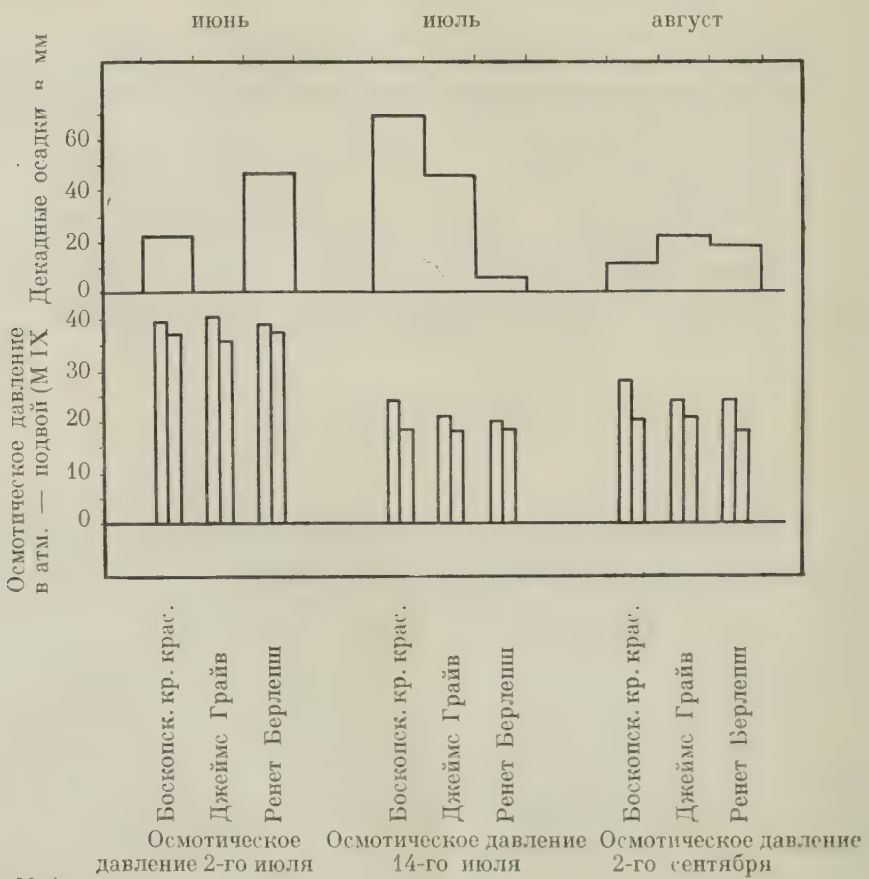


График № 1.
Зависимость осмотического давления клеточного сока от погоды и урожая

Результаты

А. Влияние плодов на осмотическое давление клеточного сока листьев и почек яблони.

Характер опытных объектов определил способ решения вопроса путем полевых опытов во взрослых садах яблоневой области. Предварительным исследованием в 1957 г. в саду т. Лоуды (Стрижовице) было найдено

несколько подходящих сортов, которые плодоносят периодически и плоды которых значительно влияют на уровень осмотического давления клеточного сока. В эту группу входят прежде всего сорта: Милтенберское, Босконский красавец красный, Ватервлитское, Ренет Берлепш, Уэлси). Группу ежегодно плодоносящих сортов представляли: Джеймс Грайв и Онтарио. Поскольку подвой имеет часто решающее значение на степень периодического плодоношения некоторых сортов, большинство опытных

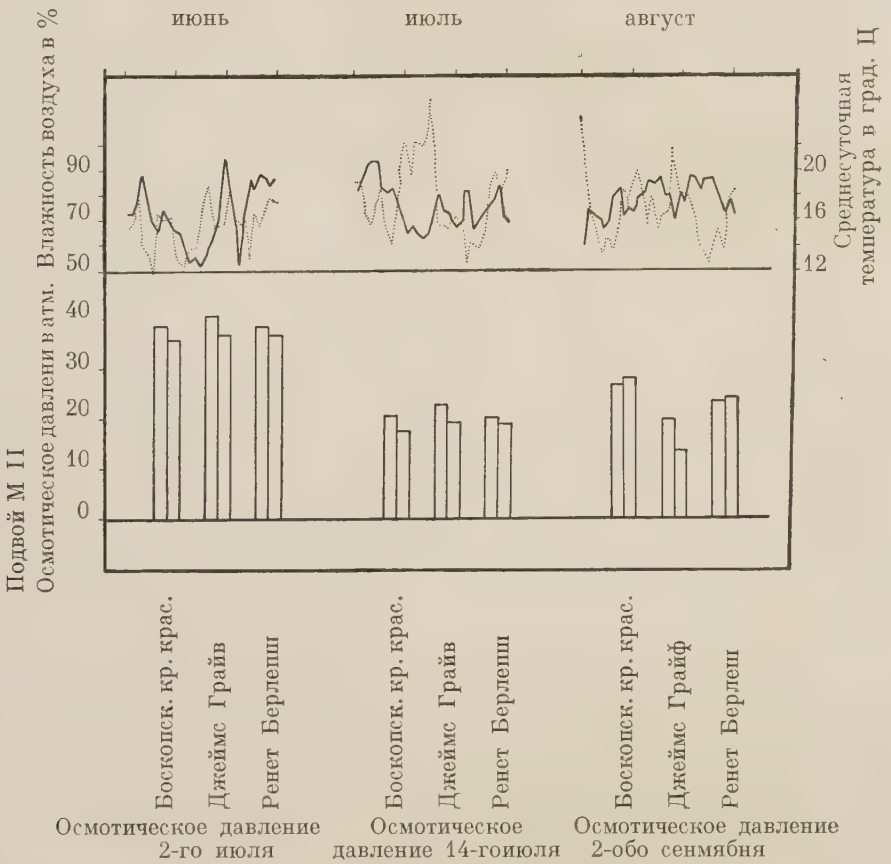


График № 2.

Зависимость осмотического давления клеточного сока от погоды и урожая

деревьев было в следующих двух годах изучено паралельно на двух типах вегетативно размножаемых подвоев М II и М IX.

На графиках №№ 1, 2 и 3 в наглядной форме представлена зависимость данных осмотического давления от климатических факторов, в первую очередь осадков. Высокий уровень осмотического давления в начале июля 1958 г. можно объяснить малым количеством осадков в июне месяце (исключительно сухая весна). В конце июня выпало значительное коли-

чество осадков, но иссушенная почва анулировала их проявление. После проливных июльских дождей уровень осмотического давления упал приблизительно на половину (к 14-7-58 г.). Последующее определение осмотического давления в конце августа и в начале сентября не могло иметь большего значения для решения нашего вопроса, поскольку в конце

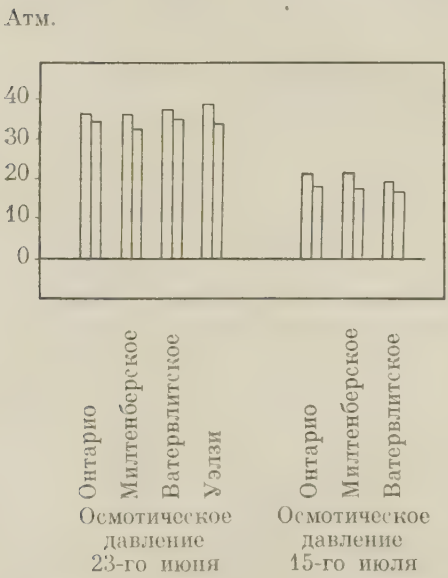


График № 3.

Зависимость осмотического давления клеточного сока от погоды и урожая

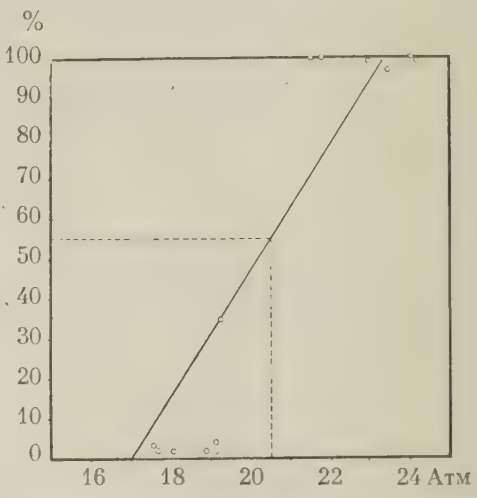


График № 4.

Корреляция осмотического давления с процентом цветочных почек

июня и в начале августа уже формируются органы цветка в наших условиях (Нойаука, 1957). Для последующей дифференцировки цветочных почек все же имеет большое значение. По данным Коломийца (1954, 1955) высокая концентрация клеточного сока замедляет дифференцировку цветочных почек и препятствует осеннему цветению.

Исключительного внимания заслуживает тот факт, что после июльских проливных дождей у опытных деревьев не только сохранилась, но даже увеличилась относительная разница в осмотическом давлении плодоносящих и безурожайных деревьев. В дальнейшем эта разница увеличивалась только у некоторых вариантов, как видно на таблицы № 2. Наличие плодов на деревьях находится в причинной связи с понижением осмотического давления клеточного сока листьев у всех сортов яблони. Понижение осмотического давления под воздействием плодов не постоянно в течение лета, оно изменяется как релятивно (в процентах), в зависимости от климатических условий, так и абсолютно в атмосферах, что зависит от количества плодов на дереве. Абсолютная разница нарастает в течение первой половины лета и во второй половине сохраняется или понижается в той степени, в какой опадают плоды с дерева. Так например сорт Ренет

Таблица № 1 дает общее представление об опытных вариантах и частично также об осмотической характеристике сортов.

Вариант (4 деревья)	Осмотическое давл.		Электро-проводность в усл. ед.
	2/7-58 г.	14/7-58 г.	14/7-58 г.
Боскопский крас. М IX без плодов	39,57	23,92	128
Боскпоский крас. М IX с урожаем	36,95	18,28	119
Боскопский крас. М II без плодов	38,85	21,40	100
Боскопский крас. М II с урожаем	36,23	17.80	108
Джеймс Грайв М IX без плодов	40,52	21,88	112
Джеймс Грайв М IX с урожаем	37,75	17,80	117
Джеймс Грайв М II без плодов	40,52	23,08	108
Джеймс Грайв М II с урожаем	37,42	18,76	108
Ренет Берлепш М IX без плодов	38,85	20,20	125
Ренет Берлепш М IX с урожаем	37,18	18,28	125
Ренет Берлепш М II без плодов	39,33	20,68	104
Ренет Берлепш М II с урожаем	37,18	19,12	107
Милтенберское М IX без плодов	36,47	21,88	69
Милтенберское М IX с урожаем	32,65	17,56	86
Ватервлитское М IX без плодов	37,30	21,64	121
Ватервлитское М IX с урожаем	35,03	17,56	97
Уэлси М IX без плодов	38,62	—	90
Уэлси М IX с урожаем	33,60	17,80	84
Онтарио М IV без плодов	36,23	19,48	98
Онтарио М IV с урожаем	34,79	17,08	85
	14/7-1959 г.	22/8-1959 г.	16/6-1959 г.
	Атмосфер	Атмосфер	Атмосфер
Боскопский крас. М IX без плодов	$23{,}88 \pm 3 \times 0{,}24$	$23{,}08 \pm 3 \times 0{,}433$	25,11
Боскопский крас. М IX с урожаем	$18{,}40 \pm 3 \times 0{,}405$	$17{,}56 \pm 3 \times 0{,}664$	20,08

Таблица № 1. (продолжается)

Вариант (4 деревья)	Осмотическое давл.		
	14/7-1959 г	22/8-1959 г.	16/6-1959 г.
	Атмосфер	Атмосфер	Атмосфер
Боскопский крас. М II без плодов	$21{,}79 \pm 3 \times 0{,}428$	$23{,}11 \pm 3 \times 0{,}428$	25,47
Боскопский крас. М II с урожаем	$18{,}82 \pm 3 \times 0{,}270$	$21{,}25 \pm 3 \times 0{,}751$	20,20
Ренет Берлепш М II без плодов	21,58	25,26	23.56
Ренет Берлепш М II с урожаем	21,64	24,69	21,52

Таблица № 2. Разница в осмотическом давлении клеточного сока листьев яблоней без плодов по сравнении с плодоносящими.

Сорт и подвой	2/7-1958		14/7-1958		2/9-1958	
	Атм.	%	Атм.	%	Атм.	%
Боскопский крас. М IX	2,62	7,09	5,64	30,85	5,99	31,52
Боскопский крас. М II	2,62	7,23	3,60	20,22	2,64	13,07
Джеймс Грайв М IX	4,77	13,34	3,08	17,30	3,48	16,73
Джеймс Грайв М II	3,58	9,56	4,32	23,02	8,38	40,51
Ренет Берлепш М IX	1,67	4,49	1,92	10,52	5,88	32,16
Ренет Берлепш М II	2,15	5,78	1,56	8,16	5,51	24,64
Милтенберское М IX	3,82	11,7	4,32	24,60	5,88	33,95
Ватервлитское М IX	2,27	6,48	4,08	23,24	—	—
Уэлси М IX	5,02	14,94	—	—	—	—
Онтарио М IV	1,44	4,14	2,40	14,01	—	—
	16/6-1959		14/7-1959		22/8-1959	
Боскопский крас. М IX	5,03	25,05	5,48	29,78	5,52	31,44
Боскопский крас. М II	5,27	26,09	2,97	15,79	1,86	8,76
Ренет Берлепш М II	2,04	9,48	—0,06	—0,28	0,57	2,3

Берлепш в 1959 году удержал завязавшиеся плоды только до июньского опада, когда большинство урожая осыпалось, и поэтому осмотическое давление вариантов опытных деревьев этих двух вариантов выравнилось к половине июля (Табл. № 1).

После получения этих данных стало для нас интересным в 1959 г. более подробно исследовать колебания (вариабильность) осмотического давления клеточного сока у 15 опытных деревьев сорта Боскопский красавец расный, у которых произошел замен в плодоношении по сравнении с пре-

дыдущим годом. За небольшим исключением деревья плодоносящие в 1958 г. в следующем 1959 г. не цвели и наоборот. В таблице № 3 приводятся результаты измерений за 4 летних месяца. Исключение составляет дерево № 13, которое плодоносило два года подряд. Подвой М IX, на котором было привито, наверно, преодолел влияние плодов в силу не известных нам еще причин. Частично плодоносили также деревья №№ 1, 2 и 11.

Таблица № 3. Влияние плодов на осмотическое давление клеточного сока листьев яблони сорта Боскопский красавец красный.

Номер дерева	Урожай в кг	Осмотическое давление в атмосферах			
		22/6-59	14/7-59	22/8-59	15/9-59
1	31,—	23,44	22,96	22,84	23,20
2	18,3	23,32	20,92	24,28	24,52
3	1,5	—	21,76	22,60	27,15
4	2,—	—	21,52	22,72	25,47
5	39.8	20.08	18,88	22,12	22,24
6	81,9	19,72	19,24	21,88	19,00
7	156,5	—	18,04	19,00	20,08
8	62,—	—	19,12	22,00	20,68
9	2,—	26.43	24,16	22,12	24,28
10	2,1	26.55	24,04	24,28	23,20
11	26,—	27,15	23,44	22,84	24,52
12	66,5	18,64	19,12	17,18	19,00
13	63.2	22,84	19,24	19,12	23,68
14	63,5	20,08	17,68	15,88	19,24
15	42.6	19,72	17,56	17,44	20,08

Влияние плодов на уровень осмотического давления клеточного сока было одинаковым как и в прошлом году. Между средними значениями осмотического давлеия плодоносящих и бесплодных деревьев статистически высоко достоверная разница в период закладки цветочных почек. (Табл. № 1.)

В таблице № 4 приводятся данные осмотического давления клеточного сока почек опытных деревьев в 1959 г.

Таблица № 4. Осмотическая характеристика клеточного сока почек яблони. Местонахождение: Техобузице. Определение: 22/8-1959.

Вариант	Осм. давл. в атм.	Электропров. усл. ед.
Боскопский красавец М IX без плодов	14,92	56
Боскопский красавец М IX с урожаем	13,60	46
Боскопский красавец М II без плодов	15,04	57
Боскопский красавец М II с урожаем	13,96	59
Ренет Берлепш М II без плодов	14,68	49
Ренет Берлепш М II завязь осыпалась в июне	14,80	46

Таблица № 5. Разница данных сухого веса листьев плодоносящих яблоней по сравнении с бесплодными в %. Техобузице 1958-й год.

Варианты	2/7-58	14/7-58	2/9-58
Боскопский красавец крас. М IX	3,35	2,65	5,35
Боскпский красавец крас. М II	2,75	1,95	—
Джеймс Грайв М IX	1,95	2,50	4,10
Джеймс Грайв М II	1,60	1,95	3,75

Поскольку масса почек небольшая, нужно было отобрать сотни почек для получения 3 мл клеточного сока и поэтому отбирались совместно из 4 деревьев данного варианта. По этой причине не расшифрована вариабильность по деревьям.

Б. Корреляция осмотического давления с процентом заложившихся цветочных почек.

К вопросу о причиной зависимости между растущими плодами и осмотическим давлением клеточного сока были получены однозначные результаты для всех сортов яблони, как было изложено в предыдущем разделе. В противоположность этому, наши данные не позволяют сделать заключение о характере причинной зависимости между осмотическим давлением и процентом закладки цветочных почек. Растущие плоды периодически плодоносящих сортов могут влиять на закладку цветочных почек многими путями. Прежде всего мы берем в расчет 4 группы изменений, о которых упоминалось в введении настоящего сообщения. Тем не менее мы вычислили корреляционный коэффициент и регресные коэффициенты предполагаемой зависимости закладки цветочных почек от уровня осмотического давления.

В нашем опыте определялось осмотическое давление и процент закладки цветочных почек у 15 деревьев сорта Боскопский красавец красный. Количество степеней свободы 13. Значение корреляционного коэффициента для 1% достоверности — 0,641. В нашем случае вычисленный коэффициент 0,778 выше значения для 1%-ной достоверности. Поэтому можем считать, что найденный корреляционный коэффициент высоко достоверен.

Коэффициенты регрессии в уравнении регрессии имеют значение: У = $= -271{,}71 + 15{,}965 \cdot X$, где У = % цветочных почек, X = осмотическое давление в атм. На графике № 4 изображено уравнение регресии.

Обсуждение

Коломиец (1954) в своем заключительном сообщении приводит данные биохимических исследований, из которых совершенно отчетливо вытекает, что отношение углеводов к азоту не является существенным показателем в отношении закладки цветочных почек у яблони. В его опытах больше

всего цветочных почек закладывалось при самом низком значении отношения углеводов к азоту. По его данным единственным общим для всех случаев закладки цветочных почек показателем была повышенная концентрация клеточного сока. Результаты многолетних исследований сформулированы в основном в следующих пунктах (Коломиец, 1954):

«4. В зависимости от концентрации питательных соков точки роста стебля в летний период или образуют вегетативные органы (листья и ветки), или развиваются в цветы (цветочные почки). При низкой концентрации питательных веществ проходит образование и рост листьев и стебля, или формируются ростовые почки.

11. Молодые саженцы яблони в условиях сада не образуют органов плодоношения потому, что у них из-за незначительной листовой поверхности концентрация питательных веществ не может в летний период подняться до уровня, необходимого для прохождения первого периода развития цветочных почек.

12. У взрослых деревьев цветочные почки образуются только на тех ветках, где в летний период концентрация питательных веществ повышается до определенного уровня. На побегах цветочные почки обычно не закладываются вследствие того, что концентрация сока в них весь период вегетации держится на низком уровне, гораздо ниже чем в кольчатках.

13. У периодично плодоносящих деревьев яблони в год обильного цветения и плодоношения цветочные почки не образуются из-за низкой концентрации питательных веществ не только в ростовых побегах, но и в плодовых ветках. У таких деревьев в неурожайные годы почти все почки превращаются в цветочные, в результате чего в годы плодоношения значительно уменьшается облиственность деревьев и почти все пластические вещества используются на цветение и образование плодов и семян. Точки роста замещающих почек вследствие этого рано останавливаются в развитии или развиваются в направлении образования вегетативных органов.»

Основные пункты «осмотической концепции» закладки цветочных почек цитированы для сравнения с нашими результатами. В нашем исследовании было найдено, что

1. растущие плоды действительно понижают осмотическое давление клеточного сока листьев и почек яблони, разница в июле и частично в августе статистически достоверная,

2. уровень осмотического давления находится в положительной корреляции с процентом заложенных цветочных почек у периодически плодоносящих сортов яблони,

3. ежегодно плодоносящие сорта яблони (Джеймс Грайв, Онтарио) закладывают ежегодно цветочные почки и даже избыточное количество растущих плодов не в состоянии затормозить закладку цветочных почек в условиях хорошей агротехники. При этом понижение осмотического давления примерно одинаково как у периодических сортов. Уже из этого можно заключить, что понижение осмотического давления (вызванное растущими плодами) «действует» у разных сортов по разному и поэтому не может быть общей причиной ингибирования процессов закладки цветочных почек у всех сортов яблони в год урожая.

Это не значит, что понижение осмотического давления клеточного сока не может отрицательно влиять на закладку цветочных почек. Влияет, весьма вероятно, хотя бы в той степени, а) в какой оно вызвано пониженной концентрацией растворимых пластических веществ, участвующих в синтетических процессах (электролиты, сахара . . .), б) в какой действует

на активность ферментов, которые могут быть в разной степени растворены в зависимости от количества воды в протолпасте.

Из заключения Коломийца (1954), что более низкая концентрация клеточного сока у яблони более благоприятна для вегетативного роста чем для закладки цветочных почек, еще не вытекает, что терминальные почки брахибластов у деревьев с урожаем (завязавшимися плодами) больше растут, чем у деревьев без урожая. У периодических сортов рост этих почек подавлен. По нашим данным рост этих почек замедляется весной и в начале лета и в июне месяце вес этих почек уже примерно в два раза меньше, чем вес одинаковых почек на яблони без урожая. Это значит, что растущие плоды тормозят не только процессы развития и закладку цветочных почек, но и процессы роста (клеточные деления, рост листьев . . .). Коломиец также наблюдал данное явление.

В большом сообщении Туманова и Гареева (1951) обращено внимание на два способа, вида торможения: «. . . можно воспрепятствовать заложению в почках соцветий двумя способами: Во первых этого можно достигнуть путем усиления роста, главным образом молодых, недавно начавших плодоносить деревьев, а также на приросте текущего года. Во вторых, подобный результат можно получить и путем чрезмерного ослабения роста. Последнее сильно проявляется под воздействием плодов. То что плоды действительно подавляют вегетативный рост яблони, подтверждают данные Н. И. Полякова (1938).»

Можно было бы привести много данных о том, что слишком сильный рост образует не благоприятные условия для закладки цветочных почек у деревьев. Так например Немец (Němec, Pastýrik, Luxová 1958) пишет, что избыточное азотное питание при нормальном уровне остальных факторов роста наводит слишком буйный вегетативный рост. В том же направлении действует и чрезмерное увлажнение. И наоборот, преобладание фосфорного питания и умеренное увлажнение летом стимулирует закладку цветочных почек.

Слабо растущие подвои уменьшая вегетативный рост одновременно ускоряют плодоношение молодых деревьев и ослабляют периодичность плодоношения сильно растущих сортов. По данным Коломийца (1954) не удобренные саженцы сорта Боровинка не заложили цветочных почек при нормальном росте (прирост 238 см), затем как окольцованные образовали 24% цветочных почек при снижении прироста на 50% по сравнении с неудобренными саженцами и «перекормленные» (3 дозы смеси Гельригеля в период интенсивного роста) заложили 62% цветочных почек при одновременном снижении прироста побегов на 20% по сравнении с неудобренными саженцами. Поскольку действие смеси питательных солей удалось Коломийцу заменить физиологическим раствором хлористого натрия, автор нашел в этом подтверждение «осмотической концепции» закладки цветочных почек.

Повышенное осмотическое давление клеточного сока находится в отрицательной корреляции с ростом (Лобов, 1951). В этом направлении, по нашим представлениям, надо объяснять положительное влияние умеренной летней засухи на закладку цветочных почек. Само собой понятно, что осмотическое давление находится где-то в середине ряда изменений

физиологическо-биохимического характера, ведущих к развитию цветочных почек у деревьев.

Изменения осмотического давления могут иметь свое происхождение в факторах внешней среды (освещение, влажность . . .) или во внутренних факторах организма дерева) растущие плоды, слабый рост подвоя и т. д.). Разумеется, что эти первичные факторы действуют на закладку и развитие почек и путем других механизмов, кроме концентрации клеточного сока.

Одним из этих путей является изменение соотношения биокатализаторов типа ростовых веществ. Рост плодов стимулируют и контролируют специфические химические вещества, вырабатываемые меристематическими центрами семени, а, возможно, также и самой тканью плодов и прилегающими листьями (Luckwill, 1957): из них ауксины контролируют фазу растяжения клеток.

По релятивной устойчивости разницы осмотческого давления клеточного сока наших опытных деревьев в исключительно сухих условиях июньского климата по сравнению с дождливой погодой июля месяца 1958-го года возможно предполагать, что растущие плоды путем изменения соотношения между активными веществами увеличивают эластичность клеточных стенок и гидрофильность протопласта. Прямых измерений не было проведено, но имеются косвенные данные. Из данных табл. № 5 вытекает, что на единицу сухого веса плодоносящих яблоней приходится на несколько % воды больше. Но, так как это сложное явление, можно предполагать и обратный механизм у бесплодных деревьев, у которых повышение осмотического давления может быть вызвано потерей гидрофильности биоколлоидов, например старением организма. У молодых деревьев наблюдается пониженное осмотическое давление, которое увеличивается из года в год по мере увеличения транспирационной поверхности кроны. Первый более заметный урожай летом понизит осмотическое давление и затормозит закладку цветочных почек периодически плодоносящего сорта, так что взрослое дерево похоже в этом отношении на омоложенный организм привитого саженца.

На основании данных настоящей работы нельзя судить, если растущие плоды блокируют закладку цветочных почек только путем торможения ростовых процессов (деление клеток, дифференция тканей) терминальных почек брахибластов, или же это торможение включает и специфические процессы закладки цветочных почек. Преодолевая торможение деления клеток с помощью пуриновых производных а также путем экспериментального изменения корреляционных отношений между листом и почкой нам удается расчленить процессы роста и развития, как это будет показано в следующем сообщении. Большую роль в снятии тормозящего влияния плодов и листьев на рост почек надо признать также корневой системе (Dostál, 1959).

Перспективным направлением в дальнейшем исследовании развития цветочных почек у древесных надо считать изучение влияния биокатализаторов на биосинтез нуклеопротеидов в почках яблони.

В заключение выражаем благодарность д-ру Славик за методическую помощь при определении осмотического давления и внимание к работе а также инж. Дворжак, т. Лоуда и Ружичка за техническую помощь.

Литература

Казарян, В. О.: Физиологические основы онтогенеза растений. —Ереван, 1959.
Коломиец, И. А.: Об условии развития репродуктивных органов у яблони. — Агробиология 1948 (2) : 1948.
Коломиец, И. А.: Об условиях развития цветочных и ростовых почек у яблони. — Труды Института физиологии растений им. К. А. Тимирязева, **8** (2) : 361—397, 1954.
Коломиец, И. А.: О влиянии минеральных удобрений на рост побегов и образование цветочных почек у яблони. — Научные труды Украинс. Научно-исследовательского Института плодоводства, выпуск 33, 67—89, Киев, 1954.
Коломиец, И. А.: Биологические особенности развития цветочных почек и цветков яблони. — Сад и огород, **10** : 15—20, 1955.
Лобов, М. Ф.: Соотношение между ростом и концентрацией клеточного сока у растений. — Ботанический журнал, **36** : 21—28, 1951.
Туманов, И. И., Гареев, Е. З.: Влияние органов плодоношения на материнское растение. — Труды Института физиологии растений им. К. А. Тимирязева, **7** (2) : 22—108, 1951.

Dostál, R.: O celistvosti rostliny [О целостности растения] Praha 1959.
Hořavka, B.: Diferenciace květních pupenů u jabloní [Дифференцировка цветочных почек у яблони] Čs. biologie **6** (6) : 462—465, 1957.
Kobel, F.: Lehrbuch des Obstbaues auf physiologischer Grundlage. — Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1954.
Luckwill, L. C.: Studies of fruit development in relation to plant hormones IV. Acidic auxins and growth inhibitors in leaves and fruits of the apple. — Hort. Sci., **32**, (1) 18—33, 1957.
Němec, B., Pastýrik, L., Luxová, M.: Jak žije ovocný strom [Как живет фруктовое дерево] - Praha 1958.
Oparin, A., Diatschkov, N.: Über die Fermentbildung in reifenden Samen. — Bioch. Ztschr., **196**, 1935.
Slavík, B.: Osmotické hodnoty dřevin jako indikátor vhodnosti pro stanoviště [Осмотические значения древесных в качестве индикатора пригодности для местообитания] - Čs. biologie (Praha) **1** : 125—133, 1952.

Ludvík Chvojka (Department of Plant Physiology, Institute of Biology, Czechoslovak Academy of Sciences, Praha)

The Effect of Fruits on Osmotic Pressure of Cell Sap of Leaves and on Flower-Bud Formation in Apple Trees

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (1) : 15—28, 1961

The author investigated in the course of two years the osmotic pressure of 70 trees of 7 apple tree sorts, 5 of these bearing fruit periodically and 2 every year. At the beginning of the experiment, one half of the trees were without fruit and the other half with fruit-set. The experiment was carried out on 10—12-year-old trees (stock M II, M IX and M IV) in the NW apple-growing region of Bohemia (Střížovice, Těchobuzice). Three or four times during every vegetation season leaves of brachyblasts of fruit-bearing and resting apple trees were removed and the osmotic pressure of their cell sap as well as its electric conductivity were measured. Once in every season, terminal buds of brachyblasts usually giving rise to flower buds were removed and treated identically as the leaves.

It follows from the data obtained that growing fruits bring about a decrease in osmotic pressure of leaves of apple trees by 2—6 atmospheres, depending on the amount of fruit-set and on the season. This decrease depends very little on weather and differences in osmotic pressure of the cell sap of fruit-bearing and resting apple trees are highly significant in July. The cell sap osmotic pressure in buds is decreased less — by 1—2 atmospheres. A significant positive correlation between the value of osmotic pressure and flower-bud formation of the sort Boskopská červená was demonstrated. In sorts bearing fruit annually, no such correlation could be observed.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

3 (1) : 29—33, 1961

Transmission of the Clover Phyllody Virus by means of the Leafhopper *Euscelis plebejus* (Fallen)

Miloš Musil

Institute of Virology, Czechoslovak Academy of Sciences, Bratislava*

Received March 29, 1960

Přenos viru zelenokvětosti jetele křískem *Euscelis plebejus* (Fallen)

Pomocí kříska *Euscelis plebejus* (Fallen) bylo přeneseno 7 kmenů viru zelenokvětosti jetele na *Trifolium repens* L., *T. pratense* L., *T. hybridum* L., *Senecio vulgaris* L., *Taraxacum officinale* Web., *Chrysanthemum carinatum* Schousb., *Vinca rosea* L. a *Thlaspi arvense* L. Tím byla znovu potvrzena jeho schopnost přenášet tento virus isolovaný z různých míst Slovenska. Dále byla zjištěna inkubační (latentní) doba viru zelenokvětnosti ve vektoru (1 měsíc) a rovněž poměr počtu viroforních jedinců (30—60 %) k celkovému počtu testovaných křísků. V závěru upozorňuje se na význam vnímavých plevelů v koloběhu tohoto viru v přírodě a hodnotí se příznaky ochoření způsobené jednotlivými kmeny na testovacích rostlinách.

Summary

Seven strains of the clover phyllody virus originating from different localities in Slovakia were transmitted by means of the leafhopper *Euscelis plebejus* (Fallen) to *Trifolium repens* L., *T. pratense* L., *T. hybridum* L., *Senecio vulgaris* L., *Taraxacum officinale* Web., *Chrysanthemum carinatum* Schousb., *Vinca rosea* L. and *Thlaspi arvense* L. Thus the ability of *E. plebejus* to transmit the clover phyllody virus occurring in Slovakia was confirmed. The incubation (latent) period of virus in the vector lasted about a month and the percentage of leafhoppers which became viruliferous amounted to 30—60%. The importance of susceptible weeds in the circulation of the clover phyllody virus in nature is pointed out and the symptoms of disease caused by the individual virus strains in the plants tested are described.

* *Address*: Mlýnská Dolina, Bratislava, Czechoslovakia.

Introduction

At present, great attention is being paid in plant virus research not only to the virus—plant relationships, but also to the virus vectors. The latter are often of decisive importance in determining whether a given virus disease will spread to susceptible agricultural crops or whether it will remain restricted to host plants growing in natural phytocenoses.

The leafhopper *Euscelis plebejus* (Fallen) is one of the yellows-type virus vectors of major importance in Europe. Maramorosch (1953) was the first to demonstrate its ability to transmit an unidentified clover virus. Somewhat later, Frazier and Posnette (1956, 1957), Bovey (1957) and Evenhuis (1958), using the same species, obtained transmissions of a virus causing virescence and phyllody of flowers in clover plants, which they called "clover phyllody virus".

In Czechoslovakia, viral etiology of a similar, if not identical clover disease was suggested by Bojňanský and Blattný (1953). This assumption was subsequently confirmed in experiments, in which it was shown that the causative virus, which we designate clover phyllody virus in analogy to the term used in Western European countries, is also transmitted by the leafhopper *E. plebejus* (*cf.* Musil and Valenta 1958).

In further, more extensive experiments, the results of which are reported in the present paper, several strains of the clover phyllody virus were transmitted by means of *E. plebejus* to different plant species in order to obtain further information on the susceptibility of commonly grown forage crops (clovers and lucerne) and of some weeds, which could be of importance in the virus circulation in nature.

Materials and Methods

Source of virus. White clover (*Trifolium repens* L.) plants, infected with 7 strains of the clover phyllody virus were used throughout. The term strain is used here to designate virus isolates of different origin.

Strain CP-1/56 was isolated from a naturally diseased *T. repens* plant in Košice (east Slovakia) and strain CP-2/56 from a naturally infected *Reseda lutea* L. plant in the vicinity of Bratislava. The plants used as virus source in the present investigations had been infected in earlier experiments by means of the leafhopper *Aphrodes bicinctus* (Schrk.) — see Musil and Valenta (1958) and Musil (1960).

Strain CP-8/58 was isolated from a naturally infected *T. repens* plant in the vicinity of Jesenské (south Slovakia). The plants used as virus source in the present experiments had been infected by means of dodder (*cf.* Mišiga, Musil and Valenta 1960).

Strain CP-10/58 was transmitted by grafting from a naturally infected *T. repens* plant in the vicinity of Medzilaborce (Krásny Brod, northeast Slovakia) to *T. repens* plants, which were used as virus source in the present experiments.

Strains CP-14/58 and CP-2/59 originate from the vicinity of Prešov (east Slovakia) and Liptovský Mikuláš (Dehtáre, north Slovakia), respectively. Cuttings grown from the original naturally infected *T. repens* plants were used as virus source in the present experiments.

Strain CP-1/59 was obtained from naturally viruliferous adults of *E. plebejus* caught in a meadow near Ružomberok (north Slovakia). Plants of *T. repens* infected in the isolation experiment were used as virus source in the present investigations.

Methods of transmission. The individual virus strains were transmitted by means of virus free *E. plebejus* leafhoppers from a laboratory breed except for the isolation experiment with

naturally viruliferous insects (strain CP-1/59). The average infectious (acquisition) feeding period lasted 1—2 weeks. Fourth or fifth instar larvae were allowed to feed on the virus source plants until the adults hatched. In some experiments, in which the duration of the incubation (latent) period of clover phyllody virus in the vector was determined, the infectious feeding period lasted 3—7 days . The leafhoppers were then tested either in groups of 5 to 10 insects, or individually, on various test plants (see below). The latter were grown from seed, except *T. repens* and *Vinca rosea*, which were propagated by cuttings. At the beginning, the test feeding period lasted 7 days; later, the leafhoppers were transferred at 3—4 day intervals. In other points the methods used in the present investigations were similar to those used previously (MUSIL 1960).

Results and Discussion

All the 7 clover phyllody virus strains examined were transmitted by means of *E. plebejus* leafhoppers to a number of plants of different species (Table 1). Thus the ability of *E. plebejus* to transmit the clover phyllody virus, originating from different localities in Slovakia, was confirmed.

Table 1. Results of transmission experiments with different strains of the clover phyllody virus by means of the leafhopper *Euscelis plebejus* (Fallen)

Plant species	Number of plants infected / Number of plants tested						
	CP-1/56	CP-2/56	CP-8/58	CP-10/58	CP-14/58	CP-1/59	CP-2/59
Trifolium repens L.	27/95	33/89	15/17	11/14	20/78	44/60	56/135
Trifolium pratense L.	1/3	1/4	6/12	1/7	2/3	7/10	4/15
Trifolium hybridum L.	45/103	38/86	4/7	8/8	25/102	13/17	11/11
Senecio vulgaris L.	2/2	1/4	7/7	4/6	—	11/16	3/12
Taraxacum officinale WEB.	—	2/9	4/9	2/7	—	4/5	1/18
Vinca rosea L.	—	2/8	3/12	5/7	—	9/9	1/7
Solanum lycopersicum L.	0/1	0/15	0/9	0/5	0/3	0/3	0/14

By testing individual adults from some of the experiments, it was found that about 30—60% of the total number of leafhoppers examined had become viruliferous and that they transmitted the virus more or less regularly. The high percentage of viruliferous individuals and the regularity with which transmissions were obtained offer evidence that *E. plebejus* is a considerably more efficient vector than the leafhopper *Aphrodes bicinctus* (SCHRK.). This has also been pointed out by BOVEY (1957) and EVENHUIS (1958a).

The results of experiments, in which the incubation (latent) period of the clover phyllody virus in the vector was determined, showed that its duration depends not only on the conditions of the environment, but also on the instars or age of leafhoppers used in the experiments. The average incubation period of the virus in *E. plebejus* lasted 1 month.

The leafhoppers transmitted all, or most of the strains examined to commonly grown clover species (*T. repens*, *T. hybridum* and *T. pratense*), to some weeds (*Senecio vulgaris* and *Taraxacum officinale*) and to periwinkle (*Vinca rosea*). In addition, 2 *Thlaspi arvense* plants and 2 *Chrysanthemum carinatum* plants were infected with strains CP-1/59 and CP-1/56, respectively. No transmissions to *Solanum lycopersicum* L. of any of the strains examined were obtained in any of the experiments. Similarly, no symptoms were seen in *Medicago sativa* L. and *Medicago lupulina* L. plants. However, the question of whether lucerne represents a symptomless host of the clover phyllody virus was not answered by the present experiments.

The ability of the leafhopper *E. plebejus* to transmit the clover phyllody virus not only to representatives of the genus *Trifolium*, but also to some widely distributed weeds (*Taraxacum officinale*, *Senecio vulgaris* and *Thlaspi arvense*) demonstrates the importance of these plants for the virus circulation in nature. The virus can persist in perennial susceptible weeds as well as clovers not only during the whole vegetation period, but also during the winter. The overwintering of the virus is facilitated to a great extent by hibernating viruliferous larvae of *E. plebejus*. In evaluating the importance of susceptible weeds account should be taken of the fact that they occur in the field among susceptible cultivated plants and can be temporary and more suitable virus sources for other leafhoppers with closer trophic relations to them. Therefore, in a general evaluation of the circulation of the clover phyllody virus in nature it will also be necessary to consider the trophic relations of the individual vectors to the host plants, as pointed out by Blattný (1959) in connection with a general discussion on the yellows diseases ("Akarpien").

The symptoms of disease in the plants infected (Fig. 1—7) can be characterized by:

a) slight flavescence or, at least, slight vein clearing of the apical leaves (*Trifolium* spp., *Senecio vulgaris* and *Taraxacum officinale*),

b) growth inhibition accompanied by proliferation of axillary buds into thin shoots (*Trifolium* spp., *Senecio vulgaris*, *Thlaspi arvense* and *Chrysanthemum carinatum*),

c) virescence, phyllody and proliferation of flowers or inflorescences (*Trifolium* spp., *Senecio vulgaris*, *Thlaspi arvense*, *Chrysanthemum carinatum* and *Vinca rosea*), and

d) marked reduction and deformation of leaves (*Taraxacum officinale*).

A comparison of the symptoms of disease caused by the individual strains in the experimentally infected clovers, *Senecio vulgaris*, *Taraxacum officinale* and *Vinca rosea* plants, showed that they differed only little. Minor differences consisted for the most part of a different intensity of the individual symptoms and their appearance in a given sequence, characteristic for the individual strains. In most cases, however, the differences observed in the test plants mentioned were within the limits of the natural variability of symptoms caused by the influence of different environmental conditions, by the variability of plants used in the individual tests etc. In no case were these differences of a degree comparable to that observed, for example, between strains

CP-1/56 and CP-8/58 in some solanaceous hosts (see Mišiga, Musil and Valenta 1960).

It is not yet possible to decide to what a degree the strains of the clover phyllody virus occurring in Slovakia resemble strains reported by Frazier and Posnette (1957), Bovey (1957) and Evenhuis (1958) from Great Britain, Switzerland and the Netherlands, respectively. These authors transmitted their strains for the most part to clover species only, in addition to some other host plants which, however, do not represent suitable differential hosts for distinguishing between individual virus strains.

References

Blattný, C.: *Anagallis arvensis* L. als Indikator der Anwesenheit von Viren aus der Gruppe der Samenlosigkeit (Akarpie) — Stolbur und Vergilbungskrankheiten. — Biol. Plant. **1** : 211—223, 1959.

Bojňanský, V., Blattný, C.: Virózné žltačky a bezsemenosti vo svetle sovietských a našich výskumov. [Viröse Vergilbungskrankheiten und Samenlosigkeiten im Lichte der sovjetischen und heimischen Forschung.] — Biológia (Bratislava) **8** : 538—560, 1953.

Bovey, R.: Une anomalie des fleurs du trèfle causée par un virus transmis par des cicadelles. — Rev. romande Agric. Vitic. Arboric. **13** : 106—108, 1957.

Evenhuis, H. H.: Investigations on a leafhopper-borne clover virus. Proc. 3rd Conf. on Potato Virus Diseases, Lisse-Wageningen 1957, Wageningen, 251—254, 1958.

Evenhuis, H. H.: De vectoren van het bloemvergroeningsvirus van klaver. — T. Pl. ziekten **64** : 335—336, 1958a.

Frazier, N. W., Posnette, A. F.: Leafhopper transmission of a clover virus causing green petal disease in strawberry. — Nature, Lond., **177** : 1040—1041, 1956.

Frazier, N. W., Posnette, A. F.: Transmission and host-range studies of strawberry green-petal virus. — Ann. appl. Biol. **45** : 580—588, 1957.

Maramorosch, K.: A new leafhopper-borne plant diseases from Western Europe. — Pl. Dis. Rep. **37** : 612—613, 1953.

Mišiga, S., Musil, M., Valenta, V.: Niektoré hostiteľské rastliny vírusu zelenokvetosti ďateliny. [Some host plants of the clover phyllody virus.] — Biológia (Bratislava) **15** : 538—542, 1960.

Musil, M.: Übertragung des Stolbur-, Kleeverzwergungs- und Kleeverlaubungsvirus durch die Zikade *Aphrodes bicinctus* (Schrank). — Biológia (Bratislava) **15** : 721—728, 1960.

Musil, M., Valenta, V.: Prenos stolburu a príbuzných vírusov pomocou niektorých cikád. (Predbežná zpráva.) [Transmission of the stolbur and related viruses by some leafhoppers. (Preliminary report.).] — Biológia (Bratislava) **13** : 133—136, 1958.

Милош Мусил (Институт вирусологии, Чехословацкая академия наук, Братислава)

Перенос вируса позеленения цветков клевера посредством цикады *Euscelis plebejus* (Fallen)

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (1) : 29—33, 1961

При помощи цикады *Euscelis plebejus* (Fallen) перенесено 7 штаммов вируса позеленения цветков клевера на *Trifolium repens* L., *T. pratense* L., *T. hybridum* L., *Senecio vulgaris* L., *Taraxacum officinale* Web., *Chrysanthemum carinatum* Schousb., *Vinca rosea* L. и *Thlaspi arvense* L. Таким образом снова подтверждена способность этой цикады переносить данный вирус, изолированный из разных мест Словакии. Дальше установлен инкубационный (латентный) период вируса позеленения цветков в векторе (1 месяц) и также отношение числа переносящих вирус особей (30—60 %) к общему числу подопытных цикад. В заключении подчеркивается значение соответствующих сорняков в круговороте этого вируса в природе и дается оценка признаков заболевания, вызываемого отдельными штаммами на подопытных растениях.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

3 (1) : 34—38, 1961

La variabilité du niveau du virus de la jaunisse chez *Allium ampeloprasum* L. subsp. *porrum* L. (Regel)

Ctibor Blattný

Section phytopathologique, l'Institut de biologie de l'Académie tchécoslovaque des sciences*

Accepté le 5. Mars 1960

Kolísání virové hladiny u žloutenky česneku póru pravého *(Allium ampeloprasum* L. subsp. *porrum* L. (REGEL)

1. Křís *Calligypona pellucida* Fabr. velmi pravděpodobně přenáší na pór a kuchyňskou cibuli kmeny virové žloutenky aster, což se projevuje především proliferací květenství.

2. Podle toho, že vroubováním sektorů nemocné cibule póru do cibulí zdravých pórů nebyla choroba přenesena, lze soudit, že virus v cibuli obsažen není, nebo ve velmi malém množství, nebo se neudrží v aktivním stavu.

3. Podíl proliferovaných „pórků" a květů v květenství nemocných rostlin kolísá a dosvědčuje tak kolísání hladiny virů i v květenstvích.

4. U nemocných rostlin se vyvine málo semene a toto semeno má nízkou klíčivost.

5. Těmito pokusy je dokazována opět jak akropetálnost, tak i kolísání hladiny virů v jednotlivých částech rostlin.

Résumé

1. Le cicadine *Calligypona pellucida* Fabr. est très vraisemblablement le vecteur des souches européennes de la jaunisse à virus des asters, les transmettant sur le poireau et l'oignon; cette maladie se manifeste surtout par la prolifération de l'inflorescence.

2. Cette maladie n'était pas transmise par greffage des secteurs du bulbe du poireau atteint sur les bulbes de poireaux sains. On en peut donc conclure que le virus n'est pas présent dans le bulbe, ou qu'il n'y est qu'en quantité très petite, ou encore qu'il ne peut persister en état actif.

* *L'adresse*: Biologický ústav ČSAV, Na Karlovce 1, Praha-Dejvice.

3. Le rapport entre les « poireaux » proliférés et les fleurs en l'inflorescence des plantes malades est variable, et il prouve ainsi la variabilité du niveau des virus dans l'inflorescence même.

4. Chez les plantes malades il n'y a que peu de graines qui se développent, et leur capacité de germination est faible.

5. Les expériences citées prouvent de nouveau tant l'acropétalité que la variabilité du niveau des virus dans les parties individuelles des plantes.

Introduction

Le genre *Allium* compte — comme l'avait déjà constaté Kunkel (1931) aux Etats-Unis — parmi les genres attaqués par le virus de la jaunisse américaine des asters (Aster Yellows). En Europe egalement, les espèces de ce genre sont frappées par les souches du virus de la jaunisse européenne des asters. Chez l'oignon par exemple, cette maladie fut constatée près d'Erfurt, en République démocratique allemande (Staar 1959), chez nous par plusieurs auteurs (J. B. Novák 1959, Kvíčala 1959, Valenta 1959) dans divers lieux en Bohême, en Moravie et aussi en Slovaquie. L'attaque ne fut d'habitude que faible, mais on a également noté des cas ou jusqu'à 5 pour cent de l'inflorescence de l'oignon furent lésés de telle manière.

Mais le but de notre étude n'est pas d'établir l'existence de cette maladie ni chez le genre Allium, ni chez le poireau. Il était plutôt question de tenter à examiner le comportement du virus dans les plantes du poireau qu'il a infecté.

Matériel et méthodes

Dans le foyer fortement infesté par les souches de la jaunisse européenne des asters (stolbur pseudo-classique), à Prague-Břevnov (Blattný 1960), on a constaté, en 1958, qu'une des 10 plantes de poireau y plantées en 1957 avait de la jaunisse (stolbur pseudo-classique). La maladie s'est manifestée typiquement par des pousses feuillées dans l'inflorescence, ou se sont développés, au lieu des fleurs, d'autres »poireaux» jeunes. Il n'est pas certain s'il s'agissait d'une infection datant du 1957 ou plutôt du 1958, mais il s'agissait à coup sur d'une infection transmise par le cicadine *Calligypona pellucida*, des autres espèces de plantes du même jardin, qui étaient fortement atteintes de la jaunisse à virus. Le cicadine cité prédominait dans ce foyer de plus que de 90 pour cent. La plante affectée a fleuri au début d'août 1958. Dans l'inflorescence s'est développée à peu près une moitié de fleurs et une moitié de »poireaux» proliférés, le rapport exact n'ayant pas été établi. On a employé cette plante pour d'autres expériences: A) Les »poireaux» proliférés furent détachés de l'inflorescence, leur base inclue, et plantés en serre, dans une terre légère mélangée avec du sable. 61 plantes se sont enracinées, qui étaient cultivées en serre jusqu'au 15 décembre 1958, puis elles furent divisées en deux groupes, dont l'un restait en serre et l'autre fut planté en plein air, dans une serre ouverte du type japan, et, en 1959, replanté en terre libre. B) Le bulbe de ce poireau affecté fut employé — après avoir été sectionné — pour greffer sur les bulbes de poireaux sains.

Résultats

A) Le groupe de poireaux proliférés enracinés, transplantés en plein air en mi-décembre 1958 et ensuite replantés en serre en février 1959, contenait 29 plantes. Ces plantes ont formé trois à cinq jets chacune. En juin 1959, seulement trois d'entre elles étaient en fleurs, les autres ne fleurissaient pas du tout. Ces poireaux fleurissants avaient l'inflorescence en partie proliférée. Le rapport numérique entre les « poireaux » et les fleurs formés dans l'inflorescence était chez ces plantes de 48% : 52% à 54% : 46%. Très peu de graines se sont formées.

Le groupe de « poireaux » proliférés enracinés, plantés en mi-décembre 1958 en plein air, dans un japan ouvert, et puis, au printemps 1959, replantés en terre libre, comprenait 32 plantes. Au début de juillet, 28 de ces 32 plantes ont formé l'inflorescence, 4 plantes n'ont pas fleuri et sont restées « vides ». Il semble que la formation des jets était en corrélation directe à part croissante de « poireaux » dans l'inflorescence. La plante ayant dans l' inflorescence la plus grande part de « poireaux » proliférés avait quatre jets, ce qui est un nombre décidément très haut en comparant à l'état normal chez les plantes saines, où ne se forme aucun ou qu'un seul jet. La variabilité de la relation entre les « poireaux » proliférés et les fleurs normales était considérable chez les inflorescences individuelles. Le rapport des »poireaux« aux fleurs était de 16 pour cent à 84 pour cent, le maximum étant de 69 pour cent à 31 pour cent. Seulement quelques graines se sont formées, la plupart des graines s'était désséchée au cours de la première période du développement. En comparant aux plantes saines, moins que 10 p. 100 de graines se sont développées, et encore étaient-elles petites. La capacité de germination des graines formées n'était que faible. Des 340 graines semées, 221 graines ont germé, soit 65 pour cent, c'est-à-dire considérablement moins que chez les plantes saines, où la capacité de germination des graines provenant de la même localité se montait à plus que 90 pour cent.

B) Les secteurs du bulbe du poireau affecté étaient greffés, en août 1958, sur cinq bulbes de plantes saines du poireau. Chez trois plantes, les greffes se sont rejointes et les plantes restaient vivantes. Deux bulbes greffés ont péri. En 1959, toutes les trois plantes ont fleuri normalement, et elles ont donné des graines d'une capacité de germination normale.

Discussion

Les virus cicadophiles, parmi lesquels on compte également notre virus, diffèrent, en leur comportement dans la plante, des virus non-cicadophiles qui, au cours de leur propagation végétative (ou chez les plantes vivaces) se transmettent à leur descendants, ou passent à l'année suivante, sans perdre de force. Par contre, les premiers, dans les conditions similaires, chez les plantes perennes, ne se transmettent sur la génération suivante, ou à l'année

suivante, que dans une part souvent beaucoup plus petite (voir SUCHOV et allii, 1946). Le seul fait qu'ils peuvent se transmettre, ou bien qu'ils ne se transmettent point — ou du moins sans symptômes évidents — témoigne de la grande variabilité du niveau de virus dans la plante. Selon nos expériences, cette variabilité diffère dans les diverses parties de la plante. La variabilité est plus forte dans les parties souterraines de la plante, où la quantité de virus s'abaisse jusqu'au niveau zéro; elle est plus faible dans les organes aériens de la plante; mais là-aussi, la rapport entre les plantes fortement atteintes de la virose, manifesté par la grand part, dans l'inflorescence, des « poireaux » proliférés, variait encore d'une manière assez prononcée. L'expérience du greffage des secteurs provenant du bulbe de la plante malade du poireau sur les bulbes des plantes saines du poireau démontrait également que la thèse sur l'acropétalité de ce groupe de virus, au moins chez certaines espèces de plantes, était probablement correcte. La capacité de germination abaissée des graines — si elles se sont formées dans les inflorescences pathologiquement changées — ne signifie pas qu'il s'agit de graines contenant le virus, mais qu'il s'agit de graines affaiblies par l'action du virus.

On n'a pas encore fini les expériences sur l'inflorescence de l'oignon (*Allium cepa* L.), affecté de la même manière, chez lequel les fleurs pathologiquement changées en petits oignons diffèrent des fleurs pathologiquement changées du poireau en ce que leur tige florale est souvent plus longue. Chez l'oignon, cette variabilité du niveau de virus dans la plante est attesté du fait que la plante de l'oignon forme plusieurs tiges florales, en quoi elle diffère du poireau, chez lequel ne se forme de règle qu'une seule tige. Chez l'oignon, le degré de l'affection attaquant l'inflorescence des tiges individuelles est variable, il y a donc, sur la même plante, des inflorescences tout'à fait normales, ainsi que des inflorescences ayant toutes les fleurs pathologiquement changées. Ceci est également en conformité avec la thèse sur l'acropétalité, attestée du reste, par exemple chez *Anagallis arvensis* par le fait bien reconnu qu'une plante atteinte de virose peut porter une pousse saine, les autres étant malades, ou qu'une autre plante avec nombre de pousses saines peut n'avoir qu'une seule pousse malade.

L'enracinement des »petits oignons«, formés sur l'inflorescence de l'oignon atteint de la jaunisse, est beaucoup plus difficile que chez le poireau. Chez le poireau, les « poireaux » enracinés atteignaient un part très élevé, se montant jusqu'à 85 pour cent, tandis que chez l'oignon la part était insignifiante, n'étant que de 5 pour cent.

Il est vraisemblable que, chez notre jaunisse du poireau et de l'oignon, il s'agit d'une autre maladie que celle, dont l'existence nous a été signalée pour l'ail (*Allium sativum* L.) par GRANCINI (1958), de l'Italie du Nord. Cette maladie-là est marquée par une excessive formation de jets: la plante de l'ail resemble plutôt à une sorte d'herbe. Les plantes ne fleurissent pas. Grancini donne à cette maladie le nom de « balais de sorcière ». Peut-être, elle pourrait être également appelée « talle ». Mais il s'agit certainement d'une maladie proche.

Littérature

Blattný, C. 1960: ined.
Grancini, P. 1958: in litt.
Kunkel, L. O.: Studies on aster yellows in some new host plants. — Contrib. Boyce Thompson Inst. **3** : 85—123, 1931.
Kvíčala, B. A. 1959: communication orale.
Novák, J. B. 1959: ined.
Staar, G. 1959: Communication orale.
Valenta, V. 1959: Communication orale.

Сухов, К. С., Вовк, А. М.: Столбур пасленовых. Изд. АН СССР, Москва-Ленинград, 1949. [Suchov, K. S., Vovk, A. M.: Stolbur chez *Solanaceae*.]

Цтибор Блаттны Отдел фитопатологии Биологического института ЧСАН, Прага

Колебание уровня вируса желтухи у лука-порея *Allium ampeloprasum* L. subsp. *porrum* L. (Regel).

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (1) : 34—38, 1961

1. Цикада *Calligypona pellucida* Fabr., по всей вероятности, переносит европейские штаммы желтухи астр на жемчужный лук и на лук, что проявляется пролиферацией соцветий.

2. Так как вставкой секторов больной луковицы жемчужного лука в луковицу здорового жемчужного лука болезнь не переносилась, то следует полагать, что вирус в луковице или не содержится, или содержится лишь в малом количестве, или не выдерживает в активном состоянии.

3. Число пролиферированных «луковичек» и цветков в соцветии больных растений колеблется и свидетельствует, таким образом, о колебании содержания вирусов в соцветии.

4. Больные растения образуют малое количество семян и эти семена обладают низкой способностью к прорастанию.

5. Данными опытами снова доказывается как акропетальность, так и колебание содержания вирусов в отдельных частях растения.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

3 (1) : 39—46, 1961

Absorption and Distribution of Sodium, Phosphorus, Chlorine, Calcium and Zinc in Some Selected Woody Ornamentals

Martin J. Bukovac and Harold Davidson

Department of Horticulture, Michigan State University*

Received May 2, 1960

Absorpce a následující rozmístění sodíku, fosforu, chloru, vápníku a zinku u některých okrasných dřevin

Byla sledována absorpce listy a následující rozmístění sodíku, fosforu, chloru, vápníku, zinku u jednoletých zakořeněných řízků *Forsythia intermedia* Zabel, a kořenová absorpce fosforu u *Taxus cuspidata* Sieb. and Zucc. Podíl živin, který byl přemístěn z listů, na něž byl aplikován, byl použit jako kritérium jejich pohyblivosti. Z toho hlediska bylo zjištěno, že sodík a chlor jsou velmi pohyblivé, vápník nepohyblivý a zinek mírně pohyblivý. Méně než 1 procento fosforu, který byl u *Taxus cuspidata* aplikován jak na rostliny aktivně rostoucí, tak na rostliny v částečně klidovém stadiu, se objevilo v kořenech po dvanácti dnech od aplikace. Šest procent z celkového fosforu, zjištěného po 12 dnech v nadzemní části, pocházelo z jediné dávky ve vodě rozpuštěného fosforečného hnojiva přidaného do půdy, ačkoliv bylo z něho absorbováno méně než 0,5 % fosforu.

Summary

The foliar absorption and subsequent distribution of sodium, chlorine, calcium and zinc in one-year-old rooted cuttings of *Forsythia intermedia* Zabel, and root absorption of phosphorus by *Taxus cuspidata* Sieb. and Zucc., was established. The percentage of the applied nutrient translocated out of the treated leaf was used as a criterion of mobility. Sodium and chlorine were found to be mobile, calcium immobile, and zinc slightly mobile.

Less than one percent of the phosphorus applied to the shoots of both actively growing and semi-dormant *Taxus cuspidata* plants was recovered in the roots after a 12-day absorption-transport period. Six percent of the total

* *Address*: East Lansing, Michigan, U.S.A.

phosphorus recovered in the tops was derived from a single soil application of a water soluble fertilizer (10—52—17) after 12 days, although, less than 0·5 percent of the applied fertilizer phosphorus was absorbed.

Introduction

The absorption of mineral nutrients by the foliage of several horticultural plants has long been indirectly demonstrated by the correction of nutrient deficiencies following foliar application of the deficient nutrient (Bould and Tolhurst 1949, Chandler et al 1933, Guest and Chapman 1949, and Gris 1844), and directly established with the radioisotope technique (Eggert et al 1952, Silberstein and Wittwer 1951). The flowers, fruits and bark of plants, as well as leaves, have been shown to function as absorbing organs (Tukey 1953). The main pathway of entry appears to be through the imperfections in the cuticular layer or through the cuticle itself (Gustafson 1956, Teubner et al 1957, Wittwer and Bukovac 1960) with stomates playing only a minor role (Wallihan and Heymann-Herschberg 1956).

Not only must the foliar applied nutrient gain entry, but the subsequent distribution (mobility) of the nutrient will determine, in part, its effectiveness in correcting nutrient deficiency disorders or as a supplement to root nutrition (Biddulph 1954, Bukovac and Wittwer 1957). Bukovac and Wittwer (1957) classified rubidium, sodium, potassium, phosphorus, chlorine and sulfur as mobile, zinc, copper, manganese, iron and molybdenum as partially mobile, and magnesium, calcium, strontium and barium as immobile elements following foliar application to the bean.

Several reports (see review by Wittwer and Teubner 1959) have appeared describing absorption rates and distribution patterns for foliar applied nutrients in herbaceous plants. Only limited data, however, are available for woody plants. The foliar absorption and subsequent distribution of sodium, chlorine, calcium and zinc in forsythia (*Forsythia intermedia* Zabel) and foliar and root absorption of phosphorus by the Japanese yew (*Taxus cuspidata* Sieb. and Zucc.) are herein described.

Materials and Methods

Forsythia intermedia. The foliar absorption and subsequent distribution of sodium (Na^{22}), chlorine (Cl^{36}), calcium (Ca^{45}) and zinc (Zn^{65}) was determined in one-year-old rooted cuttings of forsythia. Plants were grown in 13-cm. clay pots containing 50 percent loam and 50 percent sand and pruned to a single shoot. Each treatment consisted of a single plant replicated five times and arranged in a randomized block design. Three drops (0·01 ml. each) of a solution of $Na^{22}Cl$ (15 μc./ml.), HCl^{36} (3·0 μc./ml.), $Ca^{45}Cl_2$ (50 μc./ml.) or $Zn^{65}Cl_2$ (7·5 μc./ml.) were applied to the upper surface near the base of a leaf blade on the median portion of the shoot. The pH of all treating solutions was adjusted to 3·0 with HCl or NaOH. All plants were grown in a greenhouse at a minimum night temperature of 20° C and a 14-hour day length.

Plants were harvested 1/2, 4 and 12 days after treatment by segmenting into (a) treated leaf, (b) leaves above the treated leaf, (c) leaves below the treated leaf, (d) stem above the

treated leaf, (e) stem below the treated leaf, and (f) roots. All samples were dried to constant weight in a forced air oven at 70° C, ground to pass through a 40 mesh screen, and radioactivity determined directly on a one-gram sample with an end-window Geiger-Müller tube and standard scaler circuit.

Taxus cuspidata. The absorption of phosphorus by shoots of both actively growing and semi-dormant Japanese yew plants (one-year-old rooted cuttings) was ascertained by momentarily dipping a single shoot in a 0·2 percent solution of P^{32} labelled (5·0 μc./ml.) orthophosphoric acid. The pH adjusted to 3·0 and 0·1 percent sodium lauryl sulfate was added as a wetting agent. The treated shoot was removed 1/2, 1, 3, 6 and 12 days after treatment and the remainder of the plant segmented into top and roots.

Root absorption and utilization of phosphorus from a water soluble fertilizer (analysis N = = 10%, P_2P_5 = 52%, K_2O = 17%) was determined by applying 50 ml. (19 mg. of P) of the P^{32} labelled phosphate fertilizer (specific activity 4·36 μc./mg. of P) solution to the soil around the base of each plant growing in a 10-cm. clay pot. Plant tops were harvested 3, 6, and 12 days after treatment, dried, weighed and ground as previously described.

All samples for radiophosphorus analysis were pre-treated with $Mg(NO_3)_2$ and ashed for 12 hours at 550° C. The radioactivity of the ash was determined and then the total phosphorus content ascertained by the method described by Fiske and Subbarow (1925). Autoradiography was employed to portray the gross distribution and sites of accumulation of the foliar and root absorbed phosphorus. Plant tops were pressed between hot metal plates and dried under a bank of infrared heat lamps. The dried plant tissue was mounted, covered with cellophane, and placed in contact with Kodak Blue Brand X-ray film. Exposure time and development of the film was constant for all treatments, thus permitting a quantitative comparison of the autoradiograms.

The distribution of the soil applied P^{32} labelled fertilizer was followed by removing three cores of soil one-cm. in diameter and six-cm. in length from each pot at each harvest time. The core of soil was extruded from the borer and segmented into six one-cm. samples. The radioactivity of each sample was then measured.

Random block designs of six and eight replicas were utilized in the foliar- and root absorption studies of yew, respectively.

Results

Forsythia intermedia. All nutrients, Na^{22}, Cl^{36}, Ca^{45} and Zn^{65} applied as droplets on a leaf of forsythia were absorbed, but the subsequent distribution was markedly different (Table 1). Distribution of the foliar absorbed Na^{22} and Cl^{36}, 1/2, 4 and 12 days after treatment is illustrated in Fig. 1-A and 1-B, respectively. Sodium accumulated in the stem below the treated leaf and in the roots. Approximately equal quantities (0·5—0·7%) were recovered in the stem above the treated leaf and in the leaves above or below the treated leaf (Fig. 1-A). Twelve hours after treatment approximately one percent of the applied Na^{22} was transported out of the treated leaf and approximately 4 and 35 percent were translocated after 4 and 12 days, respectively.

Foliar absorbed radiochlorine was translocated more rapidly than radiosodium during the first four days; however, after 12 days, 67 percent more Na^{22} was recovered in the non-treated plant parts than Cl^{36}. Chlorine appeared to be more uniformly distributed in the forsythia plants than sodium (Fig. 1-A and 1-B). Although the stem tissue below the treated leaf consistently contained the largest quantity of Cl^{36}, it was not markedly higher than the other tissues (roots, leaves above or below the treated leaf, and stem above the treated leaf) assayed.

Foliar absorbed radiocalcium was not translocated out of the treated leaf during the course of this study (Table 1). More than 99 percent of the applied Ca^{45} was recovered in or on the treated leaf (Table 1) after 12 days. Radio-

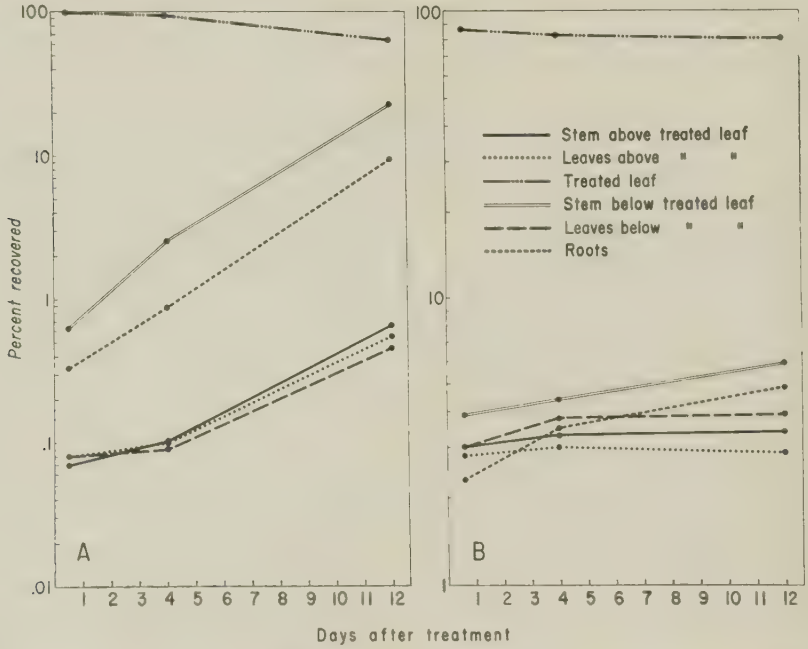


Fig. 1. The distribution of foliar applied Na^{36} (A) and Cl^{22} (B) in *Forsythia intermedia* 1/2, 4 and 12 days after treatment.

activity in non-treated plant parts did not differ significantly above background (Table 1). Autoradiograms prepared showed movement of the absorbed Ca^{45} only from the site of application towards the tip of the treated leaf.

Table 1. Distribution of foliar applied Na^{22}, Cl^{36}, Ca^{45} and Zn^{65} in *Forsythia intermedia* 12 days after treatment

Plant Part	Na^{22}	Cl^{36}	Ca^{45}	Zn^{65}
	(% of total applied)			
Treated leaf	65·1	79·1	99·86	95·3
Stem above treated leaf	0·7	3·4	0·04[1]	1·6
Leaves above treated leaf	0·6	2·8	0·03[1]	1·1
Stem below treated leaf	23·4	5·9	0·02[1]	0·7[1]
Leaves below treated leaf	0·5	3·9	0·01[1]	0·6[1]
Roots	9·8	4·9	0·03[1]	0·6[1]

[1] Radioactivity detected did not differ significantly above background.

Table 2. Transport of foliar absorbed P^{32} to the roots of actively growing and semi-dormant *Taxus cuspidata*

Days after treatment	Percent of total applied P^{32} recovered in roots	
	Actively growing	Semi-dormant
1/2	—	0·04
1	0·19	0·05
3	0·22	0·18
6	0·29	0·23
12	0·61	0·41

Zinc was only slightly mobile (Table 1). Less than five percent was translocated out of the leaf to which it was applied. The radioactivity detected in the various plant parts was variable and that recovered in the tissues below the treated leaf did not differ significantly above background (Table 1).

Taxus cuspidata. The absorption and subsequent transport of foliar applied P^{32} labelled orthophosphoric acid by shoots of actively growing and semi-dormant yew plants is listed in Table 2. In both actively growing and semi-dormant plants less than one percent of the applied phosphorus was recovered in the roots after 12 days (Table 2). Inspection of autoradiograms prepared from plants with a single treated shoot showed only limited movement of P^{32} from the treated shoot (Fig. 2-A). Similar results were obtained when the tips (3—5 mm.) of the needles on the treated shoot were removed immediately before treatment.

The absorption of P^{32} from a water soluble phosphate containing fertilizer applied to the soil medium was next determined. The absorption of P^{32} from the fertilizer was linear with time. After a 3-, 6- and 12-day absorption period 0·08, 0·23 and 0·40 percent, respectively, of the applied phosphorus was recovered in plant tops (Table 3). Although the percent of the total applied phosphorus recovered was low, it contributed 1·5, 3·9 and 6·0 percent of the total phosphorus found in the top portion of the yew (Table 3) 3, 6, and 12 days after treatment, respectively. The distribution of the root absorbed P^{32} 3 and 12 days after treatment is illustrated in Fig. 2-B and 2-C.

Table 3. The absorption and utilization of P^{32} labelled fertilizer phosphorus by *Taxus cuspidata* 3, 6, and 12 days after application to the soil medium

Days after treatment	Percent of applied phosphorus recovered in the top	Percent of the total phosphorus in the top derived from treatment
3	0·08	1·5
6	0·23	3·9
12	0·40	6·0
Least Significant Difference P = ·05	0·10	1·6

Table 4. Penetration of P^{32} labelled phosphorus fertilizer solution into the soil medium in which *Taxus cuspidata* were grown

Depth	Percent distribution	
	3 days	12 days
(cm)		
0—1	77·9	64·4*
1—2	17·8	25·8*
2—3	3·2	6·8*
3—4	0·5	2·3*
4—5	0·3	0·4
5—6	0·3	0·3

* Values are significantly different (P = ·05) than at 3 days.

The limited root uptake of P^{32} labelled soil applied fertilizer phosphorus is undoubtedly caused, in part, by poor penetration into the soil medium. Three days after treatment approximately 96 percent of the radioactivity was present in the surface 2-cm., and after 12 days 90 percent was still present in the first 2-cm. of soil (Table 4). Significantly more radioactivity was recovered with time in the lower soil depths (1—2, 2—3 and 3—4 cm.), with a corresponding decrease in radioactivity in the surface 0—1 cm. level (Table 4).

Discussion

The following order of mobility: N^{22}, Cl^{36}, Zn^{65} and Ca^{45} was established on the basis of the percent of the foliar applied isotope transported out of the treated leaf in forsythia plants after 12 days. These results are in agreement with the mobility classification of Bukovac and Wittwer (1957) for these elements when applied to the foliage of young bean seedlings. Likewise, the distribution patterns of Na^{22}, Cl^{36}, Ca^{45} and Zn^{65} in forsythia, a woody ornamental, were similar to that reported for some herbaceous plants (Bukovac and Wittwer 1957, Teubner et al 1957, Woolley et al 1958). Sodium accumulation in the stem below the treated leaf of forsythia was similar to that reported in the bean (Bukovac and Wittwer 1957).

The absence of basipetal transport of Ca^{45} following foliar application in forsythia confirms earlier reports on the immobility of calcium (Biddulph et al 1959, Bledsoe et al 1949, Bukovac et al 1956), but is in disagreement with the recent report of Barinov (1959). Barinov (1959) reported both acropetal and basipetal movement of foliar applied calcium in tomato plants following the application of doubly labelled mono-calcium orthophosphate. While some redistribution of foliar applied calcium is not precluded, the movement of large quantities from treated leaves is an exception. Such transport of foliar applied Ca^{45} has been induced by vapors of di-ethyl ether (Biddulph et al 1959, Bukovac et al 1956) and with foliar applications of

triiodobenzoic acid and maleic hydrazide (KESSLER and MOSCICKI 1958), but Biddulph (1959) pointed out that this movement resulted from back transport in the xylem rather than redistribution via the phloem.

The limited transport to the roots of foliar applied P^{32} by *Taxus cuspidata* is of special interest, since numerous investigators (BUKOVAC and WITTWER 1957, EGGERT et al 1952, KOONTZ and BIDDULPH 1957, STANKOVIC and BUKOVAC 1958) have shown that phosphorus is readily absorbed and mobile within a wide range of plants. The extremely thick cuticular layer and specialized anatomical features of the needle-like leaves of the yew may well impede the entry of phosphorus. Minimizing the cuticular effect by clipping the tips (3—5 mm.) of the needles immediately before treatment resulted in no significant increase in the P^{32} recovered in the roots. Whether or not plants were actively growing did not significantly alter absorption and transport. A detailed investigation on the barriers to absorption of foliar applied phosphorus as well as other mineral nutrients by the needle-like leaves of narrow-leaved evergreens would help explain the results reported herein. The metabolic phosphate requirement of the yew would also be of interest in establishing the significance of these results.

Acknowledgements.

The authors wish to express their appreciation to Mr. Karl H. Avers for technical assistance. These studies were supported by a grant from the United States Atomic Energy Commission, Division of Biology and Medicine, Contract AT(11-1)-159. Journal Article No. 2621 from the Michigan Agricultural Experiment Station.

References

BARINOV, G. V.: Comparative rates of entry of P^{32} and Ca^{45} and their mobility in plants following foliar application. — Doklady AN SSSR (Biol. Sci. Sect. U.S.S.R., Engl. Transl.) **125** : 88—89, 1959.

BIDDULPH, O.: The distribution of P, S, Ca and Fe in bean plants as revealed by use of radioactive isotopes. — Analyse des Plantes et Problèmes des Engrais Minéraux. 7—17 Institut de Recherches pour les Huiles et Oléagineux, Paris, France, 263 pp., 1954.

BIDDUDLPH, O., CORY, R. and BIDDULPH, S.: Translocation of calcium in the bean plant. — Plant Physiol. **34** : 512—519, 1959.

BLEDSOE, R. W., COMAR, C. L. and HARRIS, H. C.: Absorption of radioactive calcium by the peanut fruit. — Science **109** : 329—330, 1949.

BOULD, C. and TOLHURST, J.: Report on the use of foliage sprays for the control of magnesium deficiency in apples. — Bristol Univ. Agr. and Hort. Research Station, Ann. Report **1948**, 51—58, 1949.

BUKOVAC, M. J., WITTWER, S. H. and TUKEY, H. B.: Anesthetization by diethyl ether and the transport of foliar applied radiocalcium. — Plant Physiol. **31** : 254—255, 1956.

BUKOVAC, M. J. and WITTWER, S. H.: Absorption and mobility of foliar applied nutrients. — Plant Physiol. **32** : 428—435, 1957.

CHANDLER, W. H., HOAGLAND, D. R. and HIBBARD, P. L.: Littleleaf or rosette of fruit trees. II, Effect of zinc and other treatments. — Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. **29** : 255—263, 1933.

EGGERT, R., KARDOS, L. T. and SMITH, R. D.: The relative absorption of phosphorus by apple trees and fruits from foliar sprays, and from soil applications of fertilizer, using radioactive phosphorus as a tracer. — Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. **60** : 75—86, 1952.

FISKE, C. H. and SUBBAROW, Y.: The colorimetric determination of phosphorus. — Journ. Biol. Chem. **66** : 372—400, 1925.

Gustafson, F. G.: Absorption of Co^{60} by leaves of young plants and its translocation through the plant. — Amer. Jour. Bot. **43** : 157—160, 1956.
Guest, P. L. and Chapman, H. D.: Investigations on the use of iron sprays, dust, and soil applications to control iron chlorosis of citrus. — Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. **54** : 11—21, 1949.
Gris, E.: Nouvelles expériences sur l'action des composés ferrugineux solubles, appliquées à la végétation et spécialement au traitement de la chlorose et à la débilité des plantes. — Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris) **19** : 1118—1119, 1844.
Kessler, B. and Moscicki, Z. W.: Effect of triiodobenzoic acid and maleic hydrazide upon the transport of foliar applied calcium and iron. — Plant Physiol. **33** : 70—72, 1958.
Koontz, H. and Biddulph, O.: Factors affecting absorption and translocation of foliar applied phosphorus. — Plant Physiol. **32** : 463—470, 1957.
Silberstein, O. and Wittwer, S. H.: Foliar application of phosphatic nutrients to vegetable crops. — Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. **58** : 179—190, 1951.
Stankovic, D. i Bukovac, M. J.: Uticaj temperature i elementata Na, B i Cu na apsorbovanje i kretanje fosfora kod mlade biljke pasulja. — Arh. poljopr. Nauk., **11** (33) : 126—131, 1958.
Teubner, F. G., Wittwer, S. H., Long, W. G. and Tukey, H. B.: Some factors affecting absorption and transport of foliar-applied nutrients as revealed by radioactive isotopes. — Michigan Agr. Exp. Sta. Quart. Bul. **39** : 398—415, 1957.
Tukey, H. B.: The uptake of nutrients by leaves and branches of fruit trees. — Report. International Horticultural Congress, 13th Congress, London **1** : 297—306, 1953.
Wallihan, E. F. and Heymann-Herschberg, L.: Some factors affecting absorption and translocation of zinc in citrus plants. — Plant Physiol. **31** : 294—299, 1956.
Woolley, J. T., Broyer, T. C. and Johnson, G. V.: Movement of chlorine within plants. — Plant Physiol. **33** : 1—7, 1958.
Wittwer, S. H. and Teubner, F. G.: Foliar absorption of mineral nutrients. — Ann. Rev. Plant Physiol. **10** : 13—32, 1959.
Wittwer, S. H. and Bukovac, M. J.: Uptake of nutrients through leaf surfaces. — Handbuch der Pflanzenernährung und Düngung. Springer-Verlag, Berlin (In Press), 1960.

Мартин Буковац и Гарольд Давидсон (Отдел садоводства, Мичиганский государственный университет)

Абсорпция и перемещение натрия, фосфора, хлора, кальция и цинка у некоторых декоративных древесных пород

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (1) : 39—46, 1961

Изучалась абсорпция листьями и последующее перемещение натрия, хлора, кальция и цинка у однолетних укоренившихся побегов *Forsythia intermedia* Zabel. и абсорпция фосфора корнями *Taxus cuspidata* Sieb. and Zucc. Количество питательных веществ, перемещенное из листьев, на которые применялись, использовано в качестве критерия из подвижности. С этой точки зрения установлено, что натрий и хлор подвижны, кальций неподвижен и цинк лишь весьма малоподвижен.

В корнях на 12 день после применения как на активно развивающиеся растения *Taxus cuspidata*, так и на растения в частичном состоянии покоя, появилось меньше 1% фосфора. Шесть процентов фосфора, установленного 12 дней спустя в надземной части, происходило из одной дозы в воде растворимого фосфорного удобрения (N 10%, P_2O_5 52%, K_2O 17%), добавленного в почву, хотя из него абсорбировано меньше 0,5% фосфора.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

3 (1) : 47—64, 1961

Investigation of Free Amino-acids in Cross-, Self- and Non-pollinated Pistils of *Nicotiana alata*

JAROSLAV TUPÝ

Department of Plant Physiology, Institute of Biology,
Czechoslovak Academy of Sciences, Praha*

Received May 7, 1960

Sledování volných aminokyselin v cizosprášených, samosprášených a neopylených pestících *Nicotiana alata*

Růst pylových láček vyvolává ve čnělce změny v hladině volných aminokyselin. To bylo prokázáno u alaninu, valinu, leucinu — isoleucinu, serinu, threoninu, kyseliny γ-aminomáselné, asparaginu, kyseliny glutamové a prolinu. Tyto změny se uskutečňují hlavně v těch částech čnělky, kde se nalézají pylové láčky.

Především dochází ke zvyšování hladiny kyseliny γ-aminomáselné a alaninu a k úbytku kyseliny glutamové. Intensita těchto jevů je mnohem výraznější po opylení kompatibilním než v případě inkompatibilní autogamie. Jejich podstata je vysvětlována na základě předpokládaného hlavního směru katabolismu kyseliny γ-aminomáselné a alaninu cestou transaminace s kyselinou α-ketoglutarovou relativním nedostatkem této ketokyseliny.

Při snížené hladině glycidů dochází v opylených čnělkách k akumulaci asparaginu. V cizoprášených čnělkách se zvyšuje jeho hladina podstatně rychleji než po samosprášení. Jestliže je hromadění asparaginu důsledkem intensivnějšího prodýchávání bílkovin při nedostatku cukrů, vyplývá z uvedeného stejně jako z předešlé práce (TUPÝ 1961), že pylové láčky využívají z čnělkového pletiva substráty pro dýchání a že je tento proces omezován při jejich inkompatibilitní inhibici.

V semenících opylených květů se zvyšuje již v době, kdy pylové láčky prorůstají čnělkou, hladina kyseliny γ-aminomáselné a alaninu. Kvantitativně je toto zvýšení přímo závislé na rychlosti růstu láček dané kompatibilním či inkompatibilním charakterem příslušného opylení.

* *Address*: Biologický ústav ČSAV, Na cvičišti 2, Praha-Dejvice.

Summary

The growth of pollen tubes evokes changes in the level of free amino-acids in the style. This has been demonstrated in the cases of alanine, valine, leucine—isoleucine, serine, threonine, γ-aminobutyric acid, asparagine, glutamic acid and proline. These changes take place mainly in the parts of the style where the pollen tubes are present.

The most marked changes are an increase in the level of γ-aminobutyric acid and alanine and a decrease in glutamic acid. The intensity of these processes is much greater following compatible pollination than in the case of incompatible autogamy. On the assumption that the main course of γ-aminobutyric acid and alanine katabolism takes place by transamination with α-ketoglutaric acid, the basic nature of the above changes is explained as being due to a relative deficiency of the latter acid.

Alongside a reduction in the level of sugars an accumulation of asparagine takes place in pollinated styles. The rise in its level is considerably more rapid in cross-pollinated than in self-pollinated styles. If accumulation of asparagine is a result of more intensive consumption of proteins during respiration when there is a scarcity of sugars, it follows from the above results as from previous work (Tupý 1961), that pollen tubes use substrates from the style tissues for respiration and that this process is limited in the case of incompatible inhibition.

At the time when the pollen tubes are growing through the styles, the levels of γ-aminobutyric acid and alanine are already rising in the ovaries of pollinated flowers. This increase is quantitatively in direct ratio to the rate of pollen tube growth, which depends on the compatible or incompatible character of the pollination.

Introduction

The physiological mechanism of the incompatible reaction is mainly explained on the basis of a possible analogy in principle between its course and the course of immunity reactions in animals. The growth of compatible and incompatible pollen tubes is accompanied in the style by the formation of different specific protein fractions (Linskens 1955) in which both sexes play their part (Linskens 1958, 1959). Further it has been found, or it is assumed, that there is a connection between the incompatible inhibition of pollen tube growth and their carbohydrate nutrition (Eue 1953, Esser 1953 Linskens 1955, Brewbaker 1957).

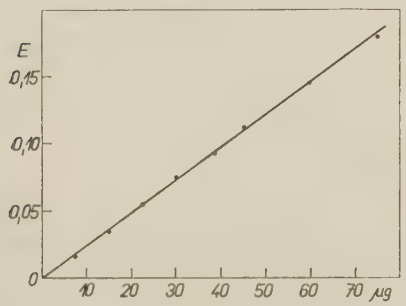
These main lines of work in the study of the physiological basis of incompatibility gave rise to an examination of the level of free amino-acids in the pistil as an expression of the normal and incompatible growth of pollen tubes.

Material and Methods

The same alcoholic extracts as are used in analysis of glycides were taken from the apical and basal parts of styles or ovaries of cross-pollinated, self-pollinated and non-pollinated flowers of autosterile *Nicotiana alata* Link et Otto plants. That is to say, the same experimental material and the same experiments are involved as those described in the author's previous work (Tupý 1961). The numbering of the experiments is also the same, i.e. 1a and 1b for experiments with flowers removed from the plant and incubated in a thermostat (25°) and 2a and 2b for experiments carried out on intact plants under field conditions.

The chromatographic method was chosen for the quantitative determination of amino-acids. Its principle consists in a photometric evaluation of an eluated cadmium complex with the coloured product of the reaction between the amino-acid and ninhydrine (Heilman, Barrollier and Watzke 1957). These complexes are more intensely coloured than the commonly-used copper complexes. Methanol eluates of the cut-out spots were examined with a Lange's photocolorimeter using BG 7 filters.

Two-dimensional serial chromatography on 10 small chromatograms (25 × 25 cm.) simultaneously (Datta, Dent and Harris 1950a, 1950b) was the most satisfactory for the division of amino-acids on paper as required for quantitative analysis. This system gave a good division of the majority of amino-acids and in addition it was possible to plot calibration curves for the different amino-acids in each series with the help of simultaneously chromatographed quantitative standards. A further advantage of this procedure is the short time required between the placing of the samples on paper and the actual colorimetric evaluation, i.e. losses of amino-acids are less than in the case of the lengthy process of division on large chromatograms. In each series there were samples on six chromatograms, standards of amino-acids in double quantity (0·05 and 0·15 μM) with repetition on four. In the first direction chromatography was carried out in the system n-propanol—water — 3 : 1 (Reuter 1957) with twice repeated development, for division in the second direction water-saturated phenol stabilised by NaCN was used. The alcoholic extract of the plant parts was always applied in amounts ensuring that the content



Dependence between extinction (cadmium complex with coloured product of reaction with ninhydrine) and amount of substance in case of asparagine.

of amino-acids being determined was quantitatively within the limits of the simultaneously applied standards. Since the amounts of the different amino-acids in the extracts were very various, it was necessary to make the application using at least two different amounts. This demanded not only more time, but also a larger amount of extract. From this point of view, in particular, in some of the experiments where the supply of material was limited the above procedure had to be altered so that the amounts of standards were adjusted to the amino-acid content of the extracts. This concerned serine, glutamine and asparagine. The values obtained were used to plot a calibration curve according to the known course of dependence between extinction and the amount of the substance. This dependence was, in the cases of glutamine and serine, already outside the scope of the Lambert-Beer's law; in the case of asparagine it remained linear up to a large amount of the substance (graph 1).

The methodical error for quantitative determination of amino-acids was within the limits ± 5%, it reached ± 15% only for the two amides when they were present in amounts less than 8 μg. for one style segment. The determination of valine also showed a higher error (± 10%) due to its poor separation from phenylalanine.

In view of the low sensitivity of ninhydrine reagents to proline, this amino-acid was determined by photometric evaluation of the eluated coloured product obtained following detection with isatine (Hrabětová, Tupý 1960). The error with this method is within the limits ± 3%.

The results of the quantitative analyses were calculated as the amount of substance contained in a unit of the analysed part of the pistil. This was because it was necessary, when comparing pollinated and non-pollinated styles, to allow for the amount of amino-acids in the pollen used. In the graphical presentation of the results the aim was, above all, to demonstrate the changes in the level of the different amino-acids in the style which were caused by the various types of pollen tubes. For this reason the amounts of substances determined in the styles after self- or cross-pollination were given as percentages of the amounts in non-pollinated styles. By this means it was also possible to eliminate changes caused by environmental conditions during the cultivation of the plants. In experiments 2a and 2b, carried out on intact plants, where there were no non-pollinated controls, there is only a comparison of self- and cross-pollinated styles. In order to enable a characterisation to be made of the normal rapid growth of pollen tubes in the styles in relation to the growth inhibited by the incompatibility reaction, the amount of amino-acid determined in self-pollinated styles was always taken as 100%.

Acknowledgement.

The very able technical assistance of Miss Jarmila Veverková is gratefully acknowledged.

Results

The absolute values for amino-acid content in *Nicotiana* pollen are given in Table 1, the results of analyses of the different pistil parts from experiments 1a and 1b are given in Table 2, those from experiments 2a and 2b in Table 3. The relative values for amounts of amino-acids between cross-pollinated, self-pollinated and non-pollinated styles are given graphically, the relative values for ovaries are given in Table 4.

Table 1. Free amino-acid content of *Nicotiana alata* pollen. Expressed in μg/10 mg of fresh weight

ALA	VAL	SER	THR	γ-AB	$ASPNH_2$	GLU	$GLUNH_2$	PRO
27·22	3·05	6·22	2·14	3·0	24·10	21·48	14·10	460·0

Table 2. Amounts of free amino-acids in different parts of pistils (apical part of style —as, basal part of style — bs, ovary — o) pollinated compatibly (1), incompatibly (2) and non-pollinated (3), expressed in μg per unit of part concerned (experiments on isolated flowers)

Experiment	No. of days since pollination	1 as	2 as	3 as	1 bs	2 bs	3 bs	1 o	2 o	3 o
		Alanine								
1a	1	3·19	2·86	0·82	0·54	0·49	0·47	2·50	2·79	2·84
	2	2·19	1·38	0·69	0·87	0·43	0·41	2·29	1·44	1·75
	3	1·50	0·78	0·54	1·66	0·76	0·54	2·09	2·92	1·67
1b	1	2·81	1·94	0·62	0·50	0·52	0·40	2·57	3·37	2·83
	2	4·18	3·35	1·44	0·85	0·50	0·55	2·70	2·83	2·75
	3	1·97	1·02	0·78	0·86	0·32	0·34	3·28	2·84	2·84

Table 2. (continued)

Experiment	No. of days since pollination	1 as	2 as	3 as	1 bs	2 bs	3 bs	1 o	2 o	3 o
					Valine					
1a	1	1·70	1·80	1·64	2·77	3·42	3·63	—	—	—
	2	2·81	1·67	1·67	3·75	3·78	4·26	—	—	—
	3	1·91	0·97	0·94	5·32	4.01	4·10	6·21	6·98	5·11
1b	1	2·17	1·70	1·28	2·78	1·90	2·51	11·75	11·23	12·10
	2	3·20	2·25	1·84	3·70	3·37	4·28	8·93	9·76	13·01
	3	3·35	1·58	1·49	4·04	2·59	3·26	6·82	5·80	9·55
					Serine					
1a	1	10·68	18·96	16·44	9·72	7·45	6·90	14·98	15·48	14·17
	2	21·96	21·0	20·40	10·82	9·78	9·24	6·68	7·51	7·92
	3	19·68	20·28	16·98	12·51	11·96	9·56	7·22	9·36	7·85
1b	1	14·40	17·16	15·0	5·41	4·86	4·31	9·74	9·74	9·85
	2	20·16	22·56	20·16	9·18	9·21	8·22	6·76	8·78	11·20
	3	23·04	23·04	19·50	10·57	8·29	9·46	7·22	6·68	8·09
					Threonine					
1a	1	1·89	2·35	1·89	2·11	2·32	2·35	10·48	9·95	9·22
	2	2·26	2·22	1·80	2·05	1·98	2·24	3·15	4·01	3·89
	3	2·36	2·17	2·08	3·35	2·80	2·60	4·81	6·53	5·58
1b	1	1·73	1·81	1·45	2·03	1·72	2·0	8·50	9·90	10·75
	2	2·49	2·56	2·26	2·32	2·56	2·60	5·85	7·52	8·73
	3	2·78	2·13	1·82	2·60	1·87	2·36	4·23	5·58	7·29
					γ-Aminobutyric acid					
1a	1	1·42	1·36	0·74	0·86	0·79	0·79	3·60	3·96	3·96
	2	1·69	1·19	1·25	0·93	0·79	0·74	4·36	2·57	2·57
	3	1·07	0·94	0·67	1·72	0·97	0·75	5·53	3·28	2·02
1b	1	1·83	1·51	0·85	0·77	0·77	0·68	1·84	3·01	2·79
	2	2·02	1·64	0·85	1·25	0·86	0·94	2·05	0·97	1·84
	3	1·31	1·16	0·71	0·88	0·49	0·73	2·23	1·31	1·31
					Asparagine					
1a	1	4·22	4·43	6·90	7·07	6·44	5·43	74·34	67·77	73·60
	2	18·64	13·73	11·28	12·30	11·02	9·48	27·63	29·88	32·13
	3	19·10	10·02	5·82	19·82	16·0	13·06	103·12	67·36	56·63
1b	1	9·16	9·60	8·72	7·0	7·24	5·06	50·67	50·67	60·80
	2	24·41	20·05	13·51	9·65	11·58	9·17	45·59	61·65	79·38
	3	32·84	19·20	11·65	13·96	9·01	9·22	37·55	56·07	68·56

Table 3. (continued)

Experiment	No. of days since pollination	1 as	2 as	3 as	1 bs	2 bs	3 bs	1 o	2 o	3 o
Glutamic acid										
1a	1	3·43	3·48	2·87	3·25	3·01	2·77	14·90	20·16	18·04
	2	2·97	2·94	2·77	2·09	2·39	2·16	17·82	15·16	19·17
	3	2·0	2·28	2·40	1·93	2·40	2·53	15·10	17·46	12·62
1b	1	2·34	3·25	2·71	1·32	1·63	1·51	27·40	32·04	24·97
	2	2·49	3·25	3·24	1·68	2·41	2·46	23·22	24·52	26·32
	3	2·0	2·40	2·79	1·57	1·67	2·22	25·20	19·62	19·40
Glutamine										
1a	1	20·28	24·0	20·28	69·84	67·80	67·80	255·60	244·80	232·20
	2	25·98	22·92	19·08	67·80	76·80	64·80	154·80	158·40	159·84
	3	19·68	17·40	14·40	63·84	60·84	63·84	117·36	150·84	140·76
1b	1	25·50	27·60	21·72	50·70	40·98	49·08	216·36	182·52	246·06
	2	26·70	32·58	26·58	52·44	57·36	64·98	142·20	172·44	215·64
	3	19·20	20·94	20·40	59·28	48·60	56·34	93·60	133·56	175·68
Proline										
1a	1	4·95	4·95	1·56	—	—	—	33·12	20·88	20·88
	2	2·43	1·68	1·08	—	—	—	2·04	2·14	1·15
	3	2·43	0·97	0·66	—	—	—	1·66	2·13	0·72
1b	1	3·69	2·62	1·05	< 0·22	< 0·22	< 0·22	11·02	16·80	18·0
	2	3·45	2·22	0·72	0·60	< 0·22	< 0·22	7·68	9·29	10·80
	3	1·08	1·0	0·60	0·64	< 0·22	< 0·22	1·15	1·15	1·44

Table 3. Free amino acid content in apical (as) and basal (bs) parts of styles following compatible (1) and incompatible (2) pollination, expressed in μg in respective style section (experiments under field conditions)

Experiment	Hours since pollination	1 as	2 as	1 bs	2 bs
Alanine					
2a	20	3·77	3·92	1·06	0·65
	40	3·25	2·15	0·72	0·59
	60	4·21	3·39	2·10	1·35
	80	2·68	1·85	1·96	0·72
2b	20	2·74	2·87	1·0	0·59
	40	3·46	3·60	0·96	0·60
	60	4·39	3·38	0·64	0·62
	80	2·76	2·34	1·25	0·44

Table 3. (continued)

Experiment	Hours since pollination	1 as	2 as	1 bs	2 bs
		Glutamic acid			
2a	20	5·01	4·71	2·55	2·23
	40	5·10	4·52	3·86	3·36
	60	4·47	4·88	2·31	3·14
	80	4·76	4·82	3·31	3·74
2b	20	5·07	4·46	3·02	3·17
	40	2·54	2·31	1·49	1·47
	60	5·73	4·95	4·42	4·68
	80	2·92	4·11	2·53	2·83
		Serine			
2a	20	23·93	26·13	5·91	5·59
	40	25·38	26·40	9·60	8·93
	60	28·82	35·09	8·09	10·37
	80	27·45	31·85	10·37	11·18
2b	20	16·92	18·60	5·25	5·82
	40	24·0	26·10	6·46	6·84
	60	23·16	25·32	7·93	8·0
	80	20·16	30·90	10·30	10·46
		γ-Aminobutyric acid			
2a	20	1·41	1·47	1·22	0·64
	40	1·50	1·43	0·75	0·46
	60	2·26	1·81	1·51	1·25
	80	1·78	1·45	1·45	0·48
2b	20	2·43	1·64	1·04	0·49
	40	1·53	1·0	1·05	0·49
	60	3·03	2·03	0·89	0·70
	80	1·01	1·01	1·22	0·70
		Asparagine			
2a	20	8·55	7·17	2·81	3·60
	40	15·75	15·75	5·84	4·92
	60	4·35	8·70	3·80	3·42
	80	21·61	16·23	3·0	3·0
2b	20	5·85	6·96	1·13	1·85
	40	1·92	2·46	1·33	1·75
	60	7·32	4·41	2·23	1·85
	80	11·70	15·30	4·68	4·22

Table 3. (continued)

Experiment	Hours since polination	1 as	2 as	1 bs	2 bs
		Glutamine			
2a	20	15·21	14·13	10·03	13·82
	40	19·68	19·56	16·70	19·78
	60	19·59	24·78	10·49	12·98
	80	12·78	17·70	12·94	25·97
2b	20	14·04	15·24	21·70	19·58
	40	5·71	6·60	6·77	8·98
	60	16·20	16·20	16·22	20·26
	80	12·48	17·94	17·71	19·78

Table 4. Relative amounts of different amino acids in ovaries of compatibly (1) and incompatibly (2) pollinated *Nicotiana alata* flowers compared with ovaries of non-pollinated flowers — expressed as percentage

Experiment	No. of days since pollination	1	2	1	2	1	2
		ALA		VAL		SER	
1a	1	88	98	—	—	106	109
	2	131	83	—	—	84	95
	3	125	174	121	137	92	119
1b	1	91	119	97	93	110	128
	2	98	103	69	75	88	93
	3	121	105	72	61	88	82
		THR		γ-AB		ASP NH_2	
1a	1	114	108	91	100	101	92
	2	81	103	169	100	86	93
	3	85	117	274	163	182	119
1b	1	80	93	66	108	83	83
	2	67	86	112	53	57	77
	3	58	76	170	100	55	82
		GLU		GLU NH_2		PRO	
1a	1	83	112	110	105	155	100
	2	93	79	97	99	177	186
	3	120	138	83	107	231	296

Table 4. (continued)

Experiment	No of days since pollination	1	2	1	2	1	2
1b	1	109	128	88	74	61	93
	2	68	78	66	80	71	89
	3	130	101	53	77	79	79

Alanine. The relative alanine content in the apical parts of pollinated styles rises sharply as compared with the apical sections of non-pollinated styles during the first day in both experimental series of isolated flowers. This increase is more pronounced in the case of compatible pollination. After the first day a marked decrease takes place in the relative amount and this is rather more for the incompatible combination than for the cross-pollinated. In all the time variants of the two experiments, however, the alanine level in this style section remains higher following cross-pollination and is lowest in non-pollinated cases. In the basal parts of the style the alanine content rises very slightly as a result of pollination during the first days. In the further two days after allogamy, when compatible pollen tubes are penetrating this section of the style, the alanine level rises sharply there. Following incompatible pollination it remains roughly at the same level as in non-pollinated styles, only in series 1a after three days, when several pollen tubes are penetrating the basal part of the style, does the amount of this amino-acid rise slightly. In the ovaries the relative alanine content shows an upward tendency in cases of cross-pollination. Following self-pollination this rise is evident only in experiment 1a three days after pollination.

The increase in alanine content in both style sections, particularly in the basal parts following allogamy as compared with cases of autogamy, is also clear in experiments carried out under field conditions.

Valine. An increase in the absolute amount of valine following cross-pollination in both the apical and basal parts of the style takes place in experiments 1a and 1b. In the ovaries, on the contrary, a decrease in level is evident in all the cases analysed. The relative amount of valine shows a marked rise in the apical sections following compatible pollination as compared with the content in non-pollinated styles. Following self-pollination, on the other hand, in both cases a slight initial rise is followed by a drop in the relative level of this amino-acid to that found in non-pollinated styles. In the basal part of the style the relative valine content does not rise in the case of cross-pollination until the third day following pollination.

Key to graphs.

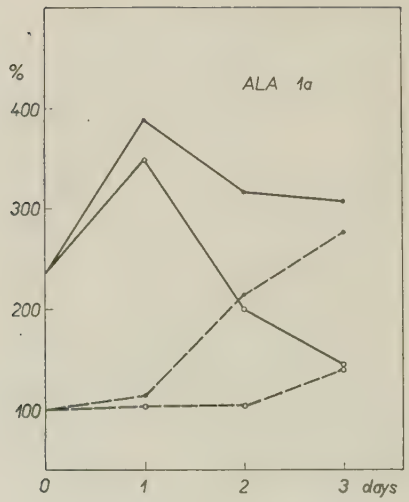
The graphs of experiments 1a and 1b show the influence of compatible and incompatible pollen tube growth on the content of the different amino-acids in the apical and basal parts of the style. (Expressed as percentage of values for apical or basal parts respectively of non-pollinated styles — ordinate. Abscissa — number of days since pollination.)

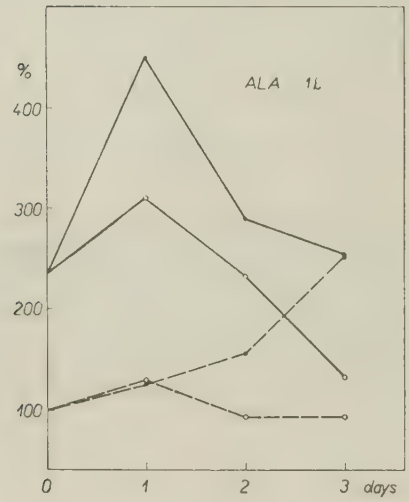
The graphs of experiments 2a and 2b represent the relative amounts of free amino-acids in the styles following compatible pollination as compared with incompatibly pollinated styles. (Expressed as percentage — ordinate. Abscissa — number of hours since pollination.) Indications as to the amino acids and the experiment concerned are given on the graphs.

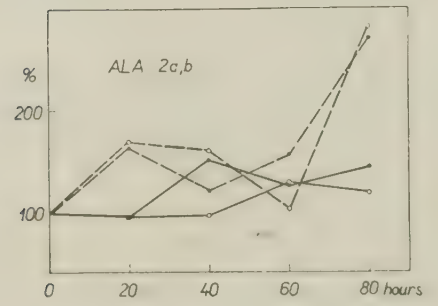
Experiment 1a apical part of style compatible pollination —●—●—●—
Experiment 1b incompatible pollination —○—○—○—

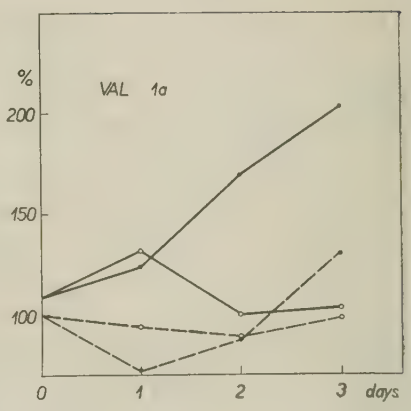
basal part of style compatible pollination - -●- -●- -●- -
incompatible pollination - -○- -○- -○- -

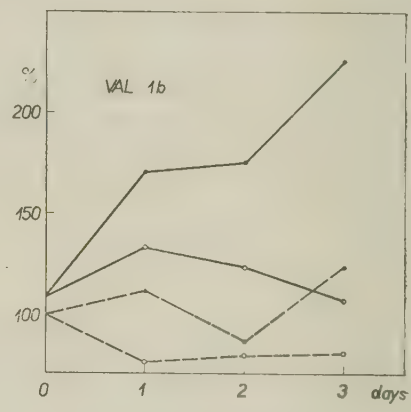
Experiment 2a apical part of style —●—●—●—, basal part of style - -●- -●- -●- -
Experiment 2b apical part of style —○—○—⊙—, basal part of style - -○- -○- -○- -

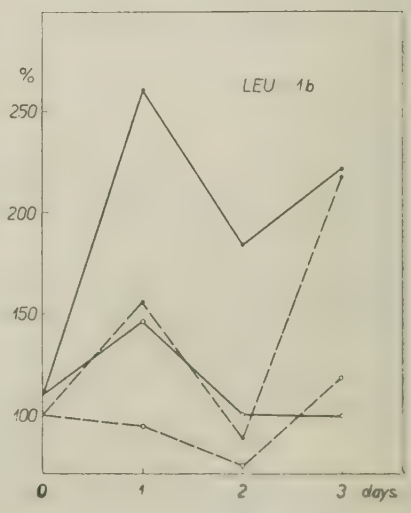

%
ALA 1a
400
300
200
100
0
1
2
3 days


%
ALA 1L
400
300
200
100
0
1
2
3 days


%
ALA 2c,b
200
100
0
20
40
60
80 hours


%
VAL 1a
200
150
100
0
1
2
3 days


%
VAL 1b
200
150
100
0
1
2
3 days


%
LEU 1b
250
200
150
100
0
1
2
3 days

Leucine — isoleucine. (Further only leucine.) In the case of leucine the quantitative standards were not determined along with the samples. Therefore, the amount of this substance was subtracted on the basis of the extinction values obtained from the general calibration curve. In view of this the results must be considered as purely relative. As in the case of other amino-acids, a mutual comparison is made between cross-pollinated, self-pollinated and non-pollinated styles, leucine content always being determined simultaneously in all. The graphic presentation of these results shows in experiment 1b an initial sharp rise in the leucine level in the apical parts of pollinated styles, particularly in the case of cross-pollination. In this case its relative amount is maintained even on the second and third days following pollination, while after self-pollination it drops to the level of non-pollinated styles. Similarly, in the basal parts of the styles there is always a greater amount of leucine following allogamy than following incompatible pollination. In these sections it reaches a high maximum on the third day following cross-pollination. In experiment 1a leucine content was determined only in styles which had been pollinated three days before. Here, too, the highest content of this amino-acid was found following compatible pollination, both in the apical and basal parts of the styles.

Serine. Experiments 1a and 1b both show an increase in the serine level in both style sections directly related to time. This is true both for cross- and self-pollinated styles and for the non-pollinated. In both cases on the first day after pollination the lowest amount of serine in the apical parts is to be found following allogamy, later there is a rise and the level reaches that found after autogamy. In both experiments the serine content is higher in the pollinated apical parts of the styles on the third day than in the non-pollinated styles. In the basal parts of the styles the greatest amount of this amino-acid is practically always present in the case of cross-pollination. The amount is strikingly raised in this case on the first day following pollination. In the ovaries the serine level shows in most cases a tendency to decline with the ageing of the flowers.

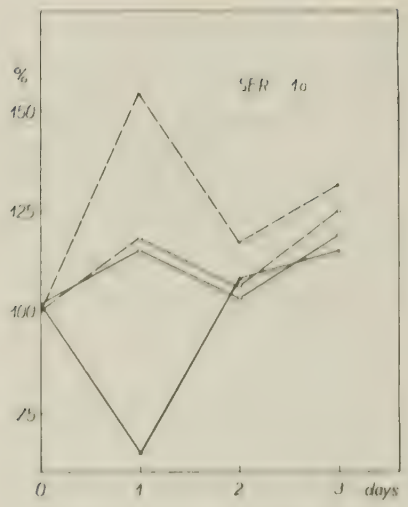
As in experiments 1a and 1b, the absolute amount of serine in intact plants increases in both parts of the styles after pollination. It is always at its lowest level 20 hours following pollination, and at its highest in the apical parts 40—60 hours and in the basal parts 80 hours following pollination.

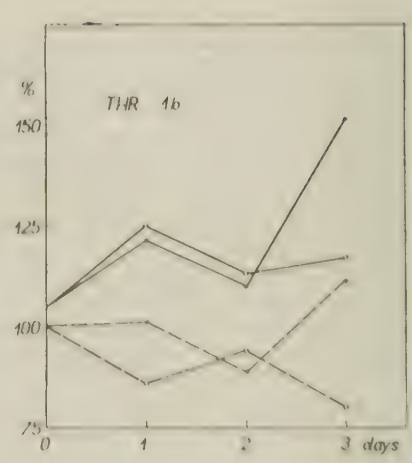
Threonine. The quantitative changes in threonine taking place in the course of the experiments are to a great extent similar in character to those of valine and serine. In both the apical and basal parts of the styles the maximum values for the content of this amino-acid are attained on the third day following compatible pollination. In the ovaries a drop in the absolute amount of threonine is evident in all cases with their advancing age.

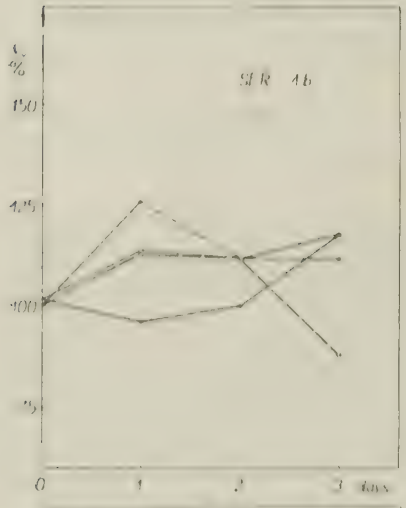
γ-Aminobutyric acid. As in the case of alanine, there is a marked increase in level, particularly in connection with the presence of the growing ends of the pollen tubes. In the first two experiments (1a, 1b) this phenomenon takes place in the apical parts of the styles at the time of the initial penetration of the pollen tubes; later, when the growing ends of the tubes are no longer passing through this section of the styles, the amount of γ-aminobutyric acid drops. In all cases the following order for the amount of this amino-acid is maintained: there is most in the apical parts of cross-pollinated styles, less in self-pollinated and least in non-pollinated. The results for the basal parts of the styles are essentially the same. In the experimental series 1a the level of this substance rises with the progressive growth of the pollen tubes. Here, too, this is much more marked in the case of compatible pollination. In experiment 1b, where the inhibition of incompatible tubes is stronger so that none of them penetrate to the basal parts of the styles, the absolute amount of γ-aminobutyric acid gradually drops in this section, particularly during the third day following pollination. In the case of cross-pollination, too, a drop is evident on the third day. At the same time some of the compatible pollen tubes have already penetrated into the ovaries. Both these phenomena are probably in causal connection. As in the apical parts of the styles, the level of γ-aminobutyric acid in this part is always highest following cross-pollination. In the ovaries of cross-pollinated flowers the amount of this substance increases in both experiments, both relatively as compared with non-pollinated flowers and absolutely.

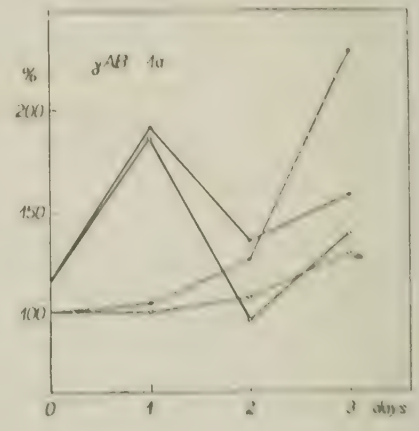
The increase in γ-aminobutyric acid content in the cross-pollinated styles as compared with the self-pollinated, particularly in their basal parts, is very clear in both experiments on intact plants.

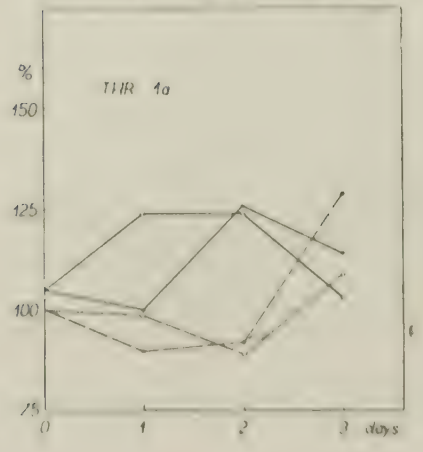
Asparagine. All variants of the experiments with isolated flowers show a rising tendency for the absolute amount of asparagine in both parts of the styles. It is evident from a comparison

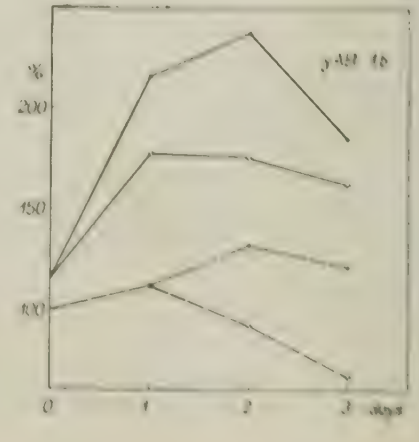

%
150
125
100
75
SER 1a
0
1
2
3 days

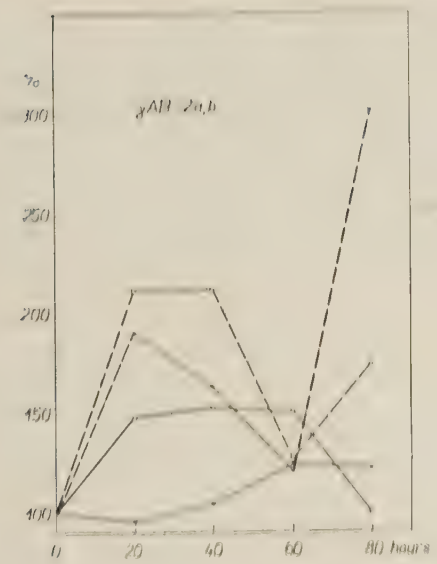

%
150
125
100
75
THR 1b
0
1
2
3 days

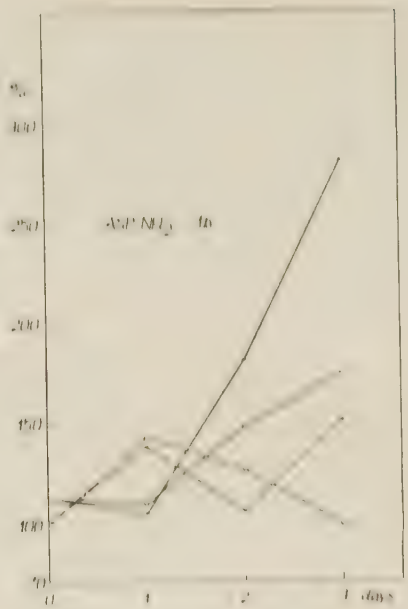

%
150
125
100
75
SER 1b
0
1
2
3 days

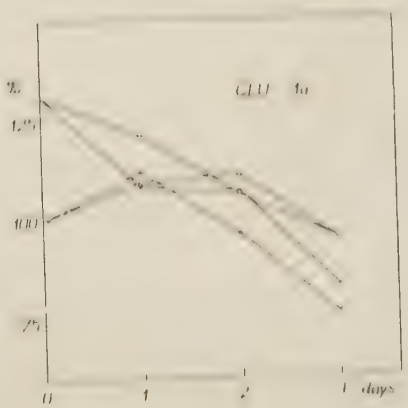

%
200
150
100
yAB 1a
0
1
2
3 days

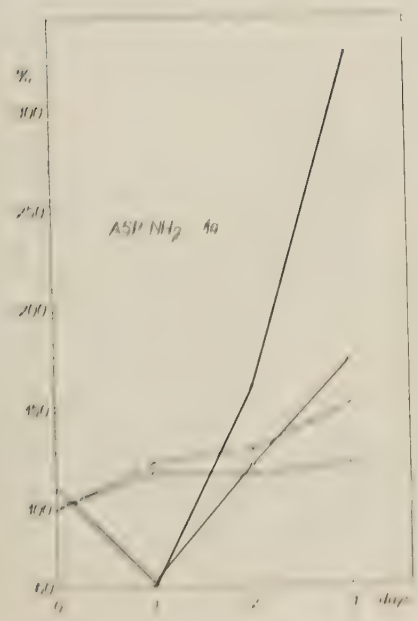

%
150
125
100
75
THR 1a
0
1
2
3 days

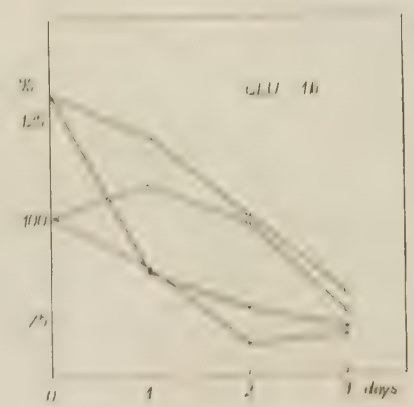

%
200
150
100
yAB 1b
0
1
2
3 days


%
300
250
200
150
100
0
20
40
60
80 hours


%
100
ASP NH2 1b
0
1
2
3 days

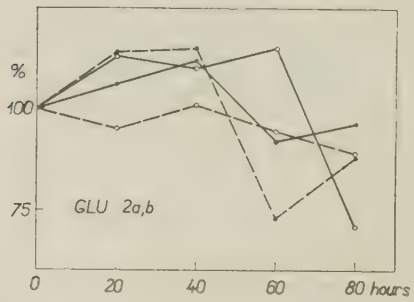

%
GLU 1a
100
0
1
2
3 days

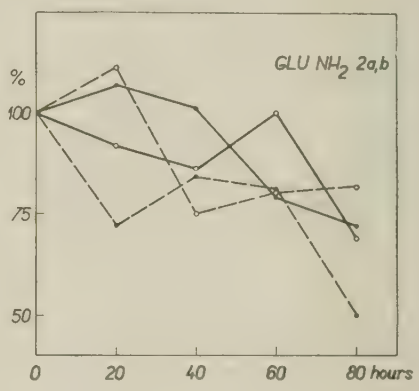

%
100
ASP NH2 1a
200
100
0
1
2
3 days


%
GLU 1b
100
0
1
2
3 days

of cross-pollinated, self-pollinated and non-pollinated styles that by far the greatest accumulation of this amide takes place in the case of compatible pollination. This applies, above all, to the apical parts of the styles, where the increase occurs mainly at the time when the compatible pollen tubes have already penetrated to the basal sections. In styles through which incompatible pollen tubes are growing or which they have already penetrated, asparagine also accumulates more rapidly than in non-pollinated styles, but to a considerably lesser extent than in the case of allogamy.

These results for detached flowers are in contrast to the situation in the experiments where the flowers remained on the plants. Here the asparagine content fluctuates irregularly, while there is no difference between cross-pollinated and self-pollinated styles as regards its level. As a rule the asparagine content is lower than in experiments 1a and 1b, particularly in the basal style sections.





Glutamic acid. The amount of glutamic acid in the apical parts of styles of detached flowers drops in the period following pollination. In the basal parts of the styles and in the ovaries the changes in absolute values are not uniform. The relative values as compared with non-pollinated styles decrease following both allogamy and autogamy in the apical and basal parts of the styles. This drop is in practically all cases greater in both parts of cross-pollinated styles. The decrease in the level of this amino-acid during the later phase following pollination in cross-pollinated styles as compared with incompatibly pollinated styles is also evident from the graph of the results of experiments carried out under field conditions.

Glutamine. The influence of pollination on the glutamine level in the styles is not expressed uniformly in experiments 1a and 1b. In the ovaries the content decreases in relation to time in all cases. In both experiments this drop is greatest in cross-pollinated flowers. The glutamine content in the ovaries of incompatibly pollinated flowers is approximately the same as in the non-pollinated.

It is evident from the absolute values obtained in experiments 2a and 2b that in almost all cases, particularly in the later phases following pollination, the glutamine content in the styles is lower following allogamy than following autogamy. The graph on which the relative amounts of this substance in the apical and basal parts of cross-pollinated styles are plotted against those for self-pollinated flowers shows the decrease particularly in the later phases following pollination.

Proline. The amount of this amino acid decreases with the ageing of the flowers in all variants of experiments 1a and 1b, and this takes place in the apical parts of the styles and in ovaries. Only in the basal parts of the styles an increase in level takes place during the period when the compatible pollen tubes are growing through them. In apical style sections the decrease is stronger after pollination than in non-pollinated variants. The absolutely higher level of proline in pollinated styles is due to the great amount of this amino acid in the pollen used for pollination.

Discussion

The direction of the influence exerted by both compatible and incompatible pollination on the level of the different free amino-acids in the style is essentially the same. Only the intensity of this influence varies according to the character of the pollination. Thus no specific metabolic changes were observed in this connection with the types of pollination investigated, but only differences in metabolic activity.

The most definite influence of the growth of pollen tubes through the style on the level of free amino-acids was to be found in the increased content of γ-aminobutyric acid and alanine. γ-Aminobutyric acid is very closely related to glutamic acid in metabolism. The common existence of the decarboxylase of glutamic acid led to the view that this amino-acid is the precursor of γ-aminobutyric acid in the organism (according to Loomis 1958). On the other hand, it was found that in carrot-tissue cultures the transfer of carbon-C^{14} from aminobutyric acid to glutamic acid and glutamine takes place about 70 times more rapidly than in the opposite direction (Steward, Bidwell and Yemm 1958). These authors assume the direct carboxylation of γ-aminobutyric acid. The existence of transamination from γ-aminobutyric acid to α-ketoglutaric acid, which has been determined not only in animal material (Bessman, Rossen and Layne 1953, Roberts 1956) and in bacteria (Higashi, Horio and Okunuki 1957, Shoji, Mori and Ito 1958), but also in higher plants (Miettinen and Virtanen 1953, Wilson, King and Burris 1954), indicates the possibility of another process for this transformation. In this way carbon C^{14} could also, by means of the Krebs cycle, be incorporated from γ-aminobutyric acid into glutamic acid in the experiments of Steward et al. This reaction is sometimes considered to be the main direction of γ-aminobutyric acid katabolism (Roberts 1956, Wilson, Hill and Koeppe 1959).

If we were to assume that γ-aminobutyric acid in the pollen tubes is linked up with further metabolism mainly through transamination with α-ketoglutaric acid, then it would be possible to explain its accumulation as due to a relative scarcity of α-ketoglutaric acid. The accumulation of alanine could be explained in the same way. The natural product of transamination reactions with this ketoacid is glutamic acid. If the general level of this amino-acid decreases following pollination and if the level of its amide also shows a decreasing tendency in experiments on intact plants in connection with the rapid growth of compatible pollen tubes as compared with cases of incompatible pollination, then we have further support for the above-mentioned assumption. A further point in its favour is the discovery that the level of glutamic acid and glutamine decreases in pollinated styles in the presence of fluoride inhibition of glycolysis and, on the contrary, the amount of γ-aminobutyric acid and to a certain extent of alanine rises (Tupý, Hra-Běťová, not yet published). From this standpoint, above all, the possibility of explaining the above changes in pollinated styles on the basis of increased activity of the decarboxylase of glutamic acid or the accelerated amination of pyruvic acid or its transamination with glutamic acid appears improbable.

Not even in preliminary experiments was increased activity of these transformations to be found in pollinated styles.

Steward, Thomrson and Pollard (1958) found when comparing growing and non growing potato tissue cultures that the influence of growth causes a reduction in the level of most amino acids with the exception of alanine where there is no reduction, and γ aminobutyric acid, the amount of which, on the contrary, increases. This is essentially in agreement with the results obtained for the growth of pollen tubes in the styles, in particular as far as γ aminobutyric acid is concerned. Thus it appears that the accumulation of this amino acid is a fairly general phenomenon associated with growth processes.

Another of the more marked features, accompanying, in particular, the intensive growth of compatible pollen tubes, is the accumulation of asparagine in the pollinated styles of isolated flowers. It is generally known that the accumulation of this amide takes place in the presence of acute sugar shortage, when protein decomposition is intensified and the superfluous ammonia, which is freed during the oxidation of amino-acids, is fixed with the formation of asparagine (Borodin 1878, Prjanišnikov 1922, Vickery et al. 1937, Mothes 1940, Wood, Cruickshank, Kuchel 1943, Wood, Cruickshank 1944, Wood, Mercer, Pedlow 1944, Yemm 1937, 1950). If we compare the glucose and fructose contents in the styles of isolated flowers in which asparagine accumulation has taken place with the content of these sugars in the styles of intact experimental plants (Tupý 1961), where no increase in asparagine content was observed during the growth of pollen tubes through the styles, it follows that here, too, the increased formation of this amide evidently depends on a shortage of carbohydrates for respiration. The amount of sugars is definitely greater in the pistils of flowers that have been left on the plants. The increased formation of asparagine in pollinated styles can then be considered as a further proof of the direct utilisation of the style substrate for the respiration of pollen tubes. The differences in the quantities of this amide in self and cross pollinated styles may further indicate a limited utilisation of the sources for pollen tube respiration by incompatible as compared with compatible tubes. The increased decomposition of proteins in cases of compatible pollination may also serve to explain the fact that in the cross pollinated styles of isolated flowers there was no reduction in glutamine level such as was found in the experiments with intact plants. In this way it is also possible to throw some light on the increased content of serine, valine and threonine in the cross pollinated styles of experiments Ia and II.

One of the forms of leucine catabolism is its transamination with α keto glutaric acid (Wilson, King and Burris 1954). The rise in the level of this amino acid in pollinated styles as compared with non pollinated styles, above all following allogamy, can again be explained on this basis as being due to a relative scarcity of α ketoglutaric acid. In addition it is probably also a result of increased protein hydrolysis in the presence of carbohydrate shortage.

The fact that as a result of the growth of pollen tubes through the style there is a change of the level of some amino acids in the ovaries is a further demonstration of the influence of pollination on the vital processes in those

parts of the pistil that have not yet been reached by the pollen tubes. This influence has already been demonstrated in other cases (WHITE 1907, ARUTYUNOVA and GUBANOV 1950, HSIANG 1951a, 1951b, BRITIKOV 1954). The increase in γ-aminobutyric acid and alanine content leads to the conclusion that similar changes to those occurring in growth processes are taking place. The phenomena here ascertained point to the existence of the often-assumed influence of pollen tube growth through the style on the development of the ovaries, which has been considered in connection with the formation of parthenocarpic fruits (e.g. according to MODLIBOWSKA 1945). They further show that the intensity of this irritation depends on the rate of pollen tube growth.

References

BESSMAN, S. P., ROSSEN, J., LAYNE, E. C.: γ-Aminobutyric acid — glutamic acid transamination in brain. — Jour. Biol. Chem. 201 : 385—391, 1953.

BORODIN, L.: Über die physiologische Rolle und die Verbreitung des Asparagins im Pflanzenreiche. — Bot. Z. **36** : 801, 1878.

BREWBAKER, J. L.: Pollen cytology and self-incompatibility systems in plants. — Jour. Heredity **48** : 271—277, 1957.

DATTA, S. P., DENT, C. E., HARRIS, H.: An apparatus for the simultaneous production of many two-dimensional paper chromatograms. — Science **112** : 621—623, 1950.

DATTA, S. P., DENT, C. E., HARRIS, H.: Apparatus for mass-production two-way paper chromatography. — Biochem. J. **46** : xlii, 1950.

ESSER, K.: Genomverdopplung und Pollenschlauchwachstum bei Heterostylen. — Zs. Vererbungslehre **85** : 28—50, 1953.

EUE, L.: Über die entwicklungsphysiologischen Grundlagen der Selbststerilität bei der Mutante Defecta von Petunia. Zeitschr. f. indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, **85**:423—428, 1953.

HEILMANN, J., BARROLLIER, J., WATZKE, E.: Beitrag zur Aminosäurebestimmung auf Papierchromatogrammen. — Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **309** : 219—220, 1957.

HIGASHI, T., HORIO, T., OKUNUKI, K.: Bacterial metabolism of γ-aminobutyric acid in Achromobacter. — J. Biochem. (Tokyo) **44** : 735—743, 1957.

HRABĚTOVÁ, E., TUPÝ, J.: Quantitative determination of proline by paper chromatography. - J. Chromatog. **3** : 199—201, 1960.

HSIANG, T. H. T.: Physiological and biochemical changes accompanying pollination in orchid flowers. I. General observations and water relations. — Plant Physiol. **26** : 441—455, 1951.

LINSKENS, H. F.: Physiologische Untersuchungen der Pollenschlauch-Hemmung selbststeriler Petunien. — Ztsch. Bot. **43** : 1—44, 1955.

LINSKENS, H. F.: Zur Frage der Entstehung der Abwehr-Körper bei der Inkompatibilitäts-Reaktion von Petunia. I. Versuche zur Markierung der Griffel mit P^{32} und C^{14}-Verbindungen.— Ber. dtsch. bot. Ges. **71** : 3—10, 1958.

LINSKENS, H. F.: Zur Frage der Entstehung der Abwehrkörper bei der Inkompatibilitätsreaktion von Petunia. II. Versuche mit radioaktiv markiertem Pollen. — Ber. dtsch. bot. Ges. **72** : 84—92, 1959.

LOOMIS, W. D.: The synthesis of amino-acids in plants. — Handbuch Pflanzenphysiol. VIII. : 224—248, 1958.

MIETTINEN, J. K., VIRTANEN, A. I.: Nitrogen metabolism of pea and alder. Transamination of γ-aminobutyric acid and L (+)-citrulline with α-ketoglutaric acid. — Acta Chem. Scand. **7** : 1243—1246, 1953.

MODLIBOWSKA, I.: Pollen tube growth and embryo sac development in apples and pears. — J. Pomol. Hort, Sci. **21** : 57—89, 1945.

MOTHES, K.: Die Biosynthese der Säureamide Asparagin und Glutamin. — Planta **30** : 726—756, 1940.

PRJANIŠNIKOV, D.: Über den Aufbau und Abbau des Asparagins in den Pflanzen. — Ber. dtsch. bot. Ges. **40** : 242, 1922.

REUTER, G.: Über den Stickstoffhaushalt der Betulaceen und anderer Laub- und Nadelhölzer. Flora **144** : 420—446, 1957.

ROBERTS, E.: Formation and utilization of γ-aminobutyric acid in brain, in: KOREY, S. R.,

Nurnberger, J. I. (Editors): Progress in Neurobiology, Vol. I. Neurochemistry, Paul. B. Hoeber, Inc. 1956, p. cit. 11—25.

Shoji, K., Mori, T., Ito, K.: The amino-acid metabolism of Mycobacterium tuberculosis. II. γ-Aminobutyric acid — glutamic acid transamination of Mycobacterium avium. — Med. J. Osaka Univ. **8** : 607—613, 1958.

Steward, F. C., Bidwell, R. G. S., Yemm, E. W.: Nitrogen metabolism, respiration and growth of cultured plant tissue. — J. Exp. Bot. **9** : 11—49, 1958.

Steward, F. C., Thompson, J. F., Pollard, J. K.: Contrast in the nitrogenous composition of rapidly growing and nongrowing plant tissue. — J. Exp. Bot. **9** : 1—10, 1958.

Tupý, J.: Changes in glucose and fructose level in *Nicotiana alata* styles and ovaries accompanying compatible and incompatible pollen tubes growth. — Biol. Plant. **3** : 1—14, 1961.

Vickery, H. B., Pucher, F. G., Wakeman, A. J., Leavenworth, Ch. S.: The metabolism of amides in green leaves. I. The amides of the tobacco leaf. — J. Biol. Chem. **119** : 369—382, 1937.

White, J. M.: The influence of pollination on the respiratory activity of the gynaeceum. — Ann. Bot. **21** : 489—499, 1907.

Wilson, E. W., Hill, R. J., Koeppe, R. E.: The metabolism of γ-aminobutyric acid-4-C^{14} by intact rats. — Jour. Biol. Chem. **234** : 347—349, 1959.

Wilson, D. G., King, K. W., Burris, R. H.: Transamination in plants. — J. Biol. Chem. **208** : 863—874, 1954.

Wood, J. G., Cruickshank, D. H.: Metabolism of starving leaves 5. — Austral. J. Exp. Biol. and Med. Sci. **22** : 111—123, 1944.

Wood, J. G., Cruickshank, D. H., Kuchel, R. H.: The metabolism of starving leaves 1—3. — Austral. J. Exp. Biol. and Med. Sci. **21** : 37—53, 1943.

Wood, J. G., Mercer, F. V., Pedlow, C.: The metabolism of starving leaves 4. — Austral. J. Exp. Biol. and Med. Sci. **22** : 38—43, 1944.

Yemm, E. W.: Respiration of barley plants. III. Protein catabolism in starving leaves. — Proc. Roy. Soc. Lond., ser. B **123** : 243—273, 1937.

Yemm, E. W.: Respiration of barley plants. IV. Proteins catabolism and the formation of amides in starving leaves. — Proc. Roy. Soc. Lond., ser. B **136** : 632—649, 1950.

Арутюнова, Л. О., Губанов, Г. Я.: К биологии оплодотворения хлопчатника. Агроб. **6** : 94—99, 1950 [Arutyunova, L. O., Gubanov, G. Ja.: On the biology of fertilization of Gossypium]

Бритиков, Е. А.: К физиолого-биохимическому анализу прорастания пыльцы и роста пыльцевых трубок в тканях пестика. — Труды инст. физ. раст. им. К. А. Тимирязева, **8** : 23—56, 1954 [Britikov, E. A.: On the physiologico-biochemical analysis of pollen germination and the growth of pollen tubes in the pistil tissues.]

Ярослав Тупы (Отдел физиологии растений, Биологический институт Чехословацкой академии наук, Прага)

Изучение свободных аминокислот в перекрестно опыленных, самоопыленных и неопыленных пестиках *Nicotiana alata*

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (1) : 47—64, 1961

Рост пыльцевых трубок вызывает в пестике изменения содержания свободных аминокислот. Это показано для аланина, валина, лейцина-изолейцина, серина, треонина, γ-аминомасляной кислоты, аспарагина, глутаминовой кислоты и пролина. Данные изменения осуществляются прежде всего в тех частях пестика, где находятся пыльцевые трубки.

Прежде всего повышается содержание γ-аминомасляной кислоты и аланина и падает содержание глутаминовой кислоты. Данные явления гораздо интенсивнее в случае совместимого опыления чем в случае несовместимой автогамии.

В случае понижения содержания глицидов в пестиках накапливается аспарагин. В перекрестно опыленных пестиках повышается его содержание быстрее чем в случае самоопыления. В том случае, что накопление аспарагина является следствием более интенсивного расходования белков на дыхание при недостатке глицидов, то отсюда, также как и из предыдущей работы (Tupý 1961), вытекает, что пыльцевые трубки пользуются субстратами для дыхания из тканей пестиков и что этот процесс ограничен в случае их ингибиции в результате несовместимости.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

3 (1) : 65—74, 1961

Наследственность ветвистости колоса ржи сопровождаемой умножением цветков и частей цветков

Йосеф Нечас*

Отдел генетики кафедры физиологии растений, микробиологии и генетики Карлова университета, Прага

Поступило 17. мая 1960 г.

Dědičnost větevnatosti klasu žita, provázené zmnožením počtu kvítků a květních částí

V hybridisačním pokuse bylo studováno dědičné založení mutací vzniklé větevnaté formy žita, vyznačující se zmnoženým počtem kvítků v klásceích a květních částí ve kvítcích. Zjistilo se, že dědičné založení této formy bylo monomerně recesivní vůči odrůdě žita Dobřenické trsnaté, s normálním utvářením klasu. Ukázalo se také, že ani zvlášť dobré, ani zvlášť špatné půdní podmínky neovlivnily štěpný poměr 3 : 1 v F_2 generaci. Studovaná mutační forma byla stabilní v dosti širokém intervalu půdních a klimatických podmínek. Jde zde patrně o stabilní poruchu v morfogenetickém procesu, vedoucím k utváření klasu.

Резюме

В гибридизационном опыте изучалась наследственная основа мутацией возникшей ветвистой формы ржи, отличающейся увеличением числа цветков в колосках и числа частей цветков. Установлено, что данная форма наследственно основана мономерно рецессивно по отношению к сорту ржи «Добряницке трснате» с нормальным строением колоса. Оказалось, что ни очень хорошие, ни очень худые почвенные условия не повлияли на отношение расщепления 3 : 1 в F_2 поколении. Изучаемая мутационная форма стабильна в довольно широком интервале почвенных и климатических условий. Повидимому, дело здесь в стабильном нарушении морфогенетического процесса, ведущего к образованию колоса.

* Адрес: Josef Nečas, Valečov, pošta Okrouhlice.

Введение

В 1950—53 гг. ниж. Палан наблюдал на опытной станции Кержков, что в потомстве отобранных суперэлитных растений ржи появляются опять и опять растения с деформированными ветвистыми колосьями (см. рис. № 1). Очевидно, дело было с рецессивным признаком и некоторые из отобранных растений, должно быть, по этому признаку являлись гетерозиготными. Надо было изучить наследственную ценность этой абнормальности, чтобы принять соответствующие меры против распространения нежелаемого признака в отселектированном материале.

Ветвитость колоса у различных видов злаковых наблюдалась много раз. Ее описывали как различного рода явление тератологического порядка уже в очень древних работах, как указывает напр. Ирасек (Jirásek 1952).

Ветвистость колоса у культурных злаковых может быть разного типа. По моему мнению возможно различать две категории ветвистости колоса: 1. наследственную ветвитость, и 2. ветвитость, вызванную внешними условиями. В случае наследственной ветвистости можно различать две категории: признак является в большой степени стабильным в широком интервале внешних условий (Цицин 1951, Beneš 1929) или под влиянием условий внешней среды выступает как очень изменчивый (Медведева и Базавлук 1950, Tschermak 1901, Bose 1935 и др.).

С генетической точки зрения уделялось в прошлом ветвистым формам очень мало внимания. Советские генетики и селекционеры в последнее время обратили на эти формы внимание стремясь получить новые формы хлебных злаков, отличающиеся высокой продукцией зерна. Обратили сперва внимание на ветвистые формы пшеницы тургидум (*Triticum turgidum* L.) Очень много энергии уделялось также работам в области выведения ветвистых форм высококачественных культурных пшениц при помощи применения разного рода искусственных приемов (Рыжей 1952, из более старых работ Mitscherlich 1920, Christiansen-Weniger 1926). Ветвистость, вызванную внешними условиями, описывают у ячменя напр. Латченко и Цицин 1951. У ячменя тоже известны обе формы ветвления. Много внимания уделялось здесь генетическому изучению данного признака. Обзор прежних работ имеется в сводке Смита (Smith 1951). Чермак (Tschermak 1901) приводит признак ветвистости колоса ячменя в качестве рецессивного, но вместе с тем замечает, что факториальную основу не удалось установить из-за нестабильности данного признака. Бозе (Bose 1935) получил ветвистые колосна у выщепляющихся растений от скрещивания двух форм ячменей с нормальными колосьями. По ходу дальнейшего анализа гибридных популяций получены им факты, свидетельствующие о бифакториальном основании данного признака. Признак ветвистости являлся рецессивным и в большой степени изменчивым. Некоторые растения обладали и нормальными и ветвистыми колосьями. Губер (Huber 1931) установил монофакториальное наследственное основание признака ветвления колоса ячменя. Вейдеман (Veideman 1927) описала ветвление только боковых колосков, которое в некоторых случаях казалось как будто бы обоснованным генетически, в других нет. Как прочно фиксиро-

ванный рецессивный признак результирует ветвление колосьев у ячменя из работы Бенеша (Beneš 1929) по скрещиванию калифорнского ветвистого ячменя Мацка с нормальным ячменем. Автором в приведенной работе получено весьма убедительное согласие с теоретическим отношением расщепления в F_2 поколении (3 : 1).

У ржи также известны обе формы ветвистости колоса. Ветвистость, вызванная влиянием внешних условий, описана напр. в работе Рода и Вржеского (Rod a Vřeský 1953). Эти авторы вызвали ветвистость колоса ржи влиянием внешних факторов у материала, проявляющего тенденцию к ветвлению. Наследственную ветвистость, на которую сильное влияние оказывают внешние условия, описывает Молотковский 1950. Относительно очень стабильная ветвистость колоса ржи приводится Цициным (Цицин 1951). В своем материале он различает две формы ветвления: простое разветвление колоса и образование особой формы, т. нз. «ежевки».

В моей работе, кажется мне, мы имеем дело с ветвистостью в большой степени сходной с той, которую описывает акад. Цицин.

Методика

В 1954 г. передал мне инж. Палан два растения, все колосья которых были образованы по типу, приведенному на картине № 1. В этом году я сначала попытался добиться в условиях изоляции их взаимного опыления с целью достигнуть максимального накопления рецессивных факторов (имеет ли свойство многофакториальное наследственное основание). Однако, мне не удалось добиться завязывания зерен и поэтому я в конце периода цветения прибег к опылению цветков поздних колосьев пыльцой другого сорта с нормальными колосьями. С этой целью использован мною сорт Добрженицкая кустистая рожь, которая в это время использовалась в нашем институте в качестве подопытного материала. Завязалось всего лишь девять зерен.

Осенью 1954 г. мною высеяно этих 9 зерен F_1 поколения. Выросшие из них растения после колошения весной следующего года показали нормальные колосья. Все первое поколение оставлено мною для свободного переопыления в условиях изоляции. Завязывание зерен оказалось нормальным.

Случайно взятую одну третью часть убранных зерен от каждого из девяти растений я осенью 1955 г. высеял отдельно для изучения проявления признака в F_2 поколении. Весною следующего года после колошения установлены отношения расщепления, результаты которого приведены в таблицах № 1 и 4 . Обсуждение растений было качественное и однозначное. Растения оказались целые или с нормальными или с ветвистыми колосьями на главном и боковых стеблях. Каких-нибудь переходных форм, обнаруживаемых при их оценке простым глазом, не установлено.

С целью проверить данный результат и заодно с целью установить влияние внешних условий на проявление признака мною высеяны оставшиеся зерна от уборки F_1 поколения снова в 1956 г. на двух участках с разными почвенными и климатическими условиями. Один участок представлял собою хорошую почву свекловичного типа и находился среди опытных участков Научно-исследовательского института свеклы в Семчицах, второй участок находился на территории пришкольного огорода в Розтоках, под старыми деревьями, в неудобренной почве, в тени, в условиях изоляции. Результаты изучения повторных F_2 поколений приведены в таблицах 2, 3 и 4.

В 1956 г. высеяна мною также часть зерен, убранных после свободного переопыления F_2 потомства, выращенного в условиях изоляции, с целью установления отношений расщепления в F_3 поколении. От каждого растения F_2 поколения взято случайно 20 зерен.

Таким образом полученное F_3 поколение выращивалось так, что отдельно были высеяны потомства растений, у которых в F_2 поколении образовались нормальные колосья, и отдельно потомства растений с ветвистыми колосьями в F_2 поколении.

Таблица № 1.

Анализ F_2 поколения выращиваемого в Праге в 1956 г.

№ растения			1	2	3	4	5	6	7	8	9
Отношения числа растений	Эмпирические	Норм.	27	15	9	30	40	31	58	66	54
		Ветв.	12	4	3	10	11	14	24	19	11
	Теоретические	Норм.	29,25	14,25	9,00	30,00	38,25	33,75	61,50	63,75	48,75
		Ветв.	9,75	4,75	3,00	10,00	12,75	11,25	20,50	21,25	16,25
Разницы			2,25	0,75	0,00	0,00	1,75	2,75	3,50	2,25	5,25
χ^2			0,69	0,16	0,00	0,00	0,32	0,90	0,80	0,32	2,25
P			0,43	0,68	1,00	1,00	0,52	0,35	0,38	0,52	0,14

χ^2 = хи-квадрат, P = вероятность, норм. = нормальные, ветв. = ветвистые

Таблица № 2.

Анализ F_2 поколения, выращиваемого в Семчицах в 1957 г.

№ растения			1	2	3	4	5	6	7	8	9
Отношения числа растений	Эмпирические	Норм.	121	103	168	100	146	87	98	83	50
		Ветв.	33	37	47	24	58	33	33	28	18
	Теоретические	Норм.	115,50	105,00	161,25	93,00	153,00	90,00	98,25	83,25	51,00
		Ветв.	38,50	35,00	53,75	31,00	51,00	30,00	32,75	27,75	17,00
Разницы			5,50	2,00	6,75	7,00	7,00	3,00	0,25	0,25	1,00
χ^2			1,046	0,152	1,130	2,106	1,280	0,400	0,0026	0,0028	0,079
P			0,32	0,69	0,29	0,17	0,28	0,51	0,94	0,94	0,79

Результаты и обсуждение

На основании результатов, полученных в первом выращенном F_2 поколении выяснилось, что расщепление идет по типу весьма близкому теоретическому отношению 3 : 1, свидетельствующему о монофакториальном рецессивном наследственном основании изучаемого признака, в чем можно убедиться по таблице 4. Поэтому эмпирические отношения расщепления во всех F_2 поколениях проверялись на согласие с приведенным теоретическим отношением при помощи χ^2.

В таблице № 1 приведены результаты изучения отношений расщепления в потомствах отдельных растений F_1 поколения, культивируемых в 1956 г. в Праге. Во всех случаях наблюдалось хорошее согласие с теоретическими отношениями расщепления. В таблицах № 2 и 3 приведены результаты проверки отношений расщепления у того же материала, высеянного во двух повторениях на отдельных участках с отличающимися почвенными и климатическими условиями. И в этом случае наблюдается хорошее согласие с теоретическими отношениями расщепления. Этим фактом подтверждается правильность результатов, достигнутых в F_2 поколении, выращиваемом в Праге.

Так как потомства отдельных растений F_1 поколения показали в F_2 поколении на всех опытных участках близкие друг другу отношения расщепления, стало возможным приступить также к изучению влияния опытного участка на отношения расщепления. Оказалось возможным все F_2 поколения на отдельных участках резъюмировать и проверить здесь согласие с теоретическим отношением расщепления. Как вытекает из табл.

Таблица № 3.

Анализ F_2 поколения, выращиваемого в Розтоках в 1957 г.

№ растения			1	2	3	4	5	6	7	8	9
Отношения числа растений	Эмпирические	Норм.	49	47	63	68	42	50	65	55	39
		Ветв.	15	14	27	19	13	22	19	15	12
	Теоретические	Норм.	48,00	45,75	67,50	65,25	41,25	54,00	63,00	52,50	38,25
		Ветв.	16,00	15,25	22,50	21,75	13,75	18,00	21,00	17,50	12,75
Разницы			1,00	1,25	4,50	2,75	0,75	4,00	2,00	2,50	0,75
χ^2			0,082	0,136	1,200	0,462	0,054	1,170	0,253	0,476	0,059
P			0,81	0,72	0,28	0,50	0,83	0,69	0,63	0,49	0,83

Таблица № 4.

Анализ F_2 поколения из отдельных участков в целом.

	Эмпирическ. отношение		Теоретическ. отношение		Разница	χ^2	P
	Норм.	Ветв.	Норм.	Ветв.			
Прага 1956	330	108	328,50	109,50	1,50	0,072	0,79
Семчице 1957	956	311	950,25	316,75	5,75	0,138	0,72
Розтоки 1957	458	156	460,50	153,50	2,50	0,054	0,82

№ 4, показывают F_2 поколения изо всех опытных участков весьма знаменательное согласие с теоретическим отношением 3 : 1. Из этого вытекает, что на проявление изучаемого признака — если он изучается качественно — участок сколько-нибудь знаменательного влияния не оказывает. В таким образом поставленном опыте характер участка не оказал влияния на отношения расщепления. В какой степени влияет характер участка на количественное проявление признака было бы возможно установить только на основании весьма трудоемких морфологических анализов, которые в рамках данной работы осуществить было нельзя.

Когда таким образом удалось нам доказать, что характер участка не оказывает сколько-нибудь существенного влияния на качественное проявление данного признака, мы могли приступить к более детальному изучению влияния материнского растения F_1 поколения на отношения расщепления в F_2. Согласие с теоретическими отношениями проверялось нами опять в более многочисленных комплексах, созданных суммацией потомств соответствующих растений изо всех трех участков. Как следует из табл. № 5, в потомствах растений F_1 поколения наблюдается хорошее согласие между эмпирическими и теоретическими отношениями расщепления. Итак, на основании данной проверки нельзя присуждать мате-

Таблица № 5

Анализ F_2 поколений отдельных растений из F_1 поколения из всех участков в целом.

№ растения	Эмпирическ. отношение		Теоретическ. отношение		Разницы	χ^2	P
	Норм.	Ветв.	Норм.	Ветв.			
1	197	60	192,75	64,25	4,25	0,373	0,56
2	165	55	165,00	55,00	0	0	1,00
3	220	77	222,75	74,25	2,75	0,135	0,72
4	198	53	188,25	62,75	9,75	2,018	0,18
5	228	82	232,50	77,50	4,50	0,348	0,56
6	168	69	177,75	59,25	9,75	2,138	0,17
7	221	76	222,75	74,25	1,75	0,055	0,83
8	204	62	199,50	66,50	4,50	0,405	0,55
9	143	41	138,00	46,00	5,00	0,724	0,41

Таблица № 6

Анализ F_3 поколения в целом (отношение 3 : 1).

	Эмпирическ. отношения		Теоретическ. отношения		Разницы	χ^2	P
	Норм.	Ветв.	Норм.	Ветв.			
F_3 поколение в целом	1193	323 (3 : 1)	1137,00	379,00	56,00	11,02	0,001
Потомства растений с норм. колосьями	1001	176 (5 : 1)	980,84	196,16	20,16	2,48	0,12
Потомства растений с ветв. колосьями	192	147 (1 : 1)	169,50	169,50	22,50	5,80	0,02

ринским растениям F_1 поколения какое-нибудь влияние на расщепление в их F_2 поколениях.

Так как и F_2 поколение выращивалось в Праге в условиях пространственной изоляции, было возможно анализировать также полученное от него F_3 поколение. Как вытекает из табл. № 6, отсутствует согласие между эмпирическими и теоретическими отношениями расщепления, предполагаемыми для F_3 поколения в случае идеального смешивания (панмиксии) в популяции перекрестно-опыляющихся растений. Только потомства растений, образующих в F_2 поколении нормальные колосья, указывают согласие с теоретическими отношениями расщепления. Полагаю, что несогласие с теоретическими отношениями расщепления в F_3 поколении как в целом так и в потомствах растений, образующих в F_2 поколении ветвистые колосья, вызвано аномальным поведением растений с ветвистыми колосьями. При предположении действительно мономерно рецессивного наследственного основания изучаемого признака возможно в F_2 поколении ожидать отношение генотипов 1 : 2 : 1. Предполагаем ли дальше эквивалентную продукцию пыльцы, возможно отношение пыльцы с факториальным основанием для нормального колоса и для ветвистого

Таблица № 7.

Анализ отдельных F_3 поколений в целом от отдельных растений из F_1 поколения (отношение 3 : 1).

№ растения	Эмпирическ. отношение		Теоретическ. отношение		Разницы	χ^2	P
	Норм.	Ветв.	Норм.	Ветв.			
1	72	26	73,50	24,50	1,50	0,123	0,74
2	62	23	63,75	21,25	1,75	0,192	0,67
3	39	7	34,50	11,50	4,50	2,346	0,13
4	156	29	138,75	46,25	17,25	8,570	0,01
5	159	33	144,00	48,00	15,00	6,249	0,01
6	112	49	120,75	40,25	8,75	2,536	0,12
7	199	58	192,75	64,25	6,25	0,809	0,38
8	303	65	276,00	92,00	27,00	10,564	0,001
9	91	33	93,00	31,00	2,00	0,175	0,67

Таблица № 8.

Проверка согласия эмпирических отношений расщепления частичных потомств растений, образующих в F_2 поколении нормальные колосья, с эмпирическими отношениями расщепления этих растений в F_3 поколении как в целом.

№ растения	Эмпирическ. отношение		Теоретическ. отношение		Разницы	χ^2	P
	Норм.	Ветв.	Норм.	Ветв.			
1	60	12	61,23	10,77	1,23	0,165	0,68
2	54	9	53,57	9,43	0,43	0,022	0,89
3	26	4	25,52	4,48	0,48	0,060	0,84
4	140	17	133,43	23,57	6,57	2,154	0,16
5	133	21	130,93	23,07	2,07	0,217	0,65
6	76	15	77,39	13,61	1,39	0,165	0,68
7	152	24	149,65	26,35	2,35	0,245	0,56
8	269	41	263,56	46,44	5,44	0,749	0,40

колоса 1 : 1. В условиях свободного переопыления рецессивно гомозиготных индивидуумов этой смесью пыльцы можно ожидать потомство с генотипическим и фенотипическим отношением 1 : 1. Потомства растений, образующих в F_2 поколении нормальные колосья, генотипически разные и надо у них теоретически ожидать в этих условиях расщепление 5 : 1, как можно убедиться конструкцией менделистского квадрата. Из него вытекает теоретическое отношение фенотипического расщепления в F_3 поколении как в целом 3 : 1 (5 : 1 + 1 : 1 = 6 : 2).

Потому что проверка отношений расщепления в F_3 поколении как в целом выявила знаменательное несогласие эмпирических и теоретических отношений расщепления, частичные F_3 потомства (потомки от отдельных F_1 растений) проверены на согласие с эмпирическими отношениями расщепления F_3 поколения как целого. Как вытекает из таблицы № 8 и 9,

Таблица № 9.

Проверка согласия эмпирических отношений расщепления частичных потомств растений из F_2, образующих в F_2 поколении ветвистые колосья, с эмпирическими отношениями расщепления этих растений в F_3 поколении как целом.

№ растения	Эмпирическ. отношение		Теоретическ. отношение		Разницы	χ^2	P
	Норм.	Ветв.	Норм.	Ветв.			
1	12	14	14,71	11,29	2,71	1,149	0,29
2	8	14	12,46	9,54	4,46	3,681	0,06
3	13	3	непроверено, одна часть ниже 5				
4	16	12	15,86	12,14	0,14	0,003	0,95
5	26	12	21,50	16,50	4,50	2,168	0,17
6	36	34	39,63	30,37	3,63	0,765	0,40
7	47	34	45,87	35,13	1,13	0,063	0,82
8	34	24	32,83	25,17	1,17	0,096	0,78

наблюдается здесь хорошее согласие, что и свидетельствует о том, что смесь пыльцы во время опыления была очень гомогенна, но продукция пыльцы у растений с ветвистыми колосьями не была эквивалентной, что результирует также из меньшего числа ветвистых типов.

Из анализа предыдущих результатов, достигнутых в проведенных нами опытах, вытекает, что изучаемое ветвление колоса, сопровождаемое его морфологическими отклонениями, основано мономерно рецессивно, в чем убеждает нас фенотипический состав F_2 поколения. Более детальное изучение более высоких F-поколений требовало бы — так как можно предполагать пониженную продукцию пыльцы у растений с ветвистыми колосьями — очевидно, искусственного индивидуального опыления опытных растений эквивалентной смесью пыльцы. Мономерно рецессивное наследственное основание столь сложного признака интересно и в этом отношении. Кажется, что мы имеем дело с общим изменением морфогенетического процесса образования колоса. Именно здесь вероятно имеют место многочисленные нарушения передвижения равновесий, которые в нормальном морфогенетическом процессе довольно стабильны. Думаю, что это явление заслуживает больше внимания с точки зрения эволюционной морфологии и физиологии. Генетический анализ надо будет дополнить анализом цитогенетическим. Так как в данной работе изучаемое ветвление колоса совсем другого вида, чем вызванное влиянием определенных условий, и появилось в культуре внезапно, подобно случаю Цицина, 1951, думаю, что имеем дело вероятно с внезапным изменением мутационного порядка. Только дальнейшее цитогенетические и хромосомальные анализы могут выяснить, имеем ли дело с хромосомной или точечной мутацией. В случае точечной мутации необходимо принять во внимание возможность или нескольких точечных мутаций с очень тесным сцеплением или одноточечную мутацию с плейотропным действием. Однако, проверка высказанных предположений требует дальнейших опытов. Также весьма вероятно, что данный признак удобен для динамического изучения морфогенетического процесса, к чему и стремится модерная генетика.

Литература

Латченко, В. Н., Нищий И. А.: Ветвистый озимый ячмень. — Селекция и семеноводство, **1** : 73—75, 1951.

Медведева, Г. В., Базавлук, Б. В.: Принципы расщепления гибридов между ветвистой пшеницей и мягкими озимыми пшеницами. — Труды Инст. генетики, **18** : 132—137, 1950.

Молотковский, Г. Н.: Влияние некоторых условий внешней среды на формирование колоса ветвистой ржи. — Докл. АН СССР, **72** : 591—593, 1950.

Рыжей, И. Н.: Получение ветвистой озимой пшеницы из обыкновенной мягкой путем воспитания. — Агробиология **6** : 15—35, 1952.

Цицин, И. В.: Ветвистая озимая рожь. — Бюлл. Главного бот. сада, **10** : 17—23, 1951.

Beneš, V.: Průběh křížení ječmene dvouřadého × rozvětvený ječmen Mackův. [Результаты скрещивания двурядого ячменя с ветвистым ячменем Мацка]. — Věstník ČAZ **5** : 209—212, 1929.

Bose, R. D.: Studies in Indian Barleys. III. Branched ears in barley and their mode of inheritance. — Indian Journ. Agr. Sci. **5** : 155—164. Цит. по Smith (1951).

Holienka, J.: K pěstování větvené pšenice. [О выращивании ветвистой пшеницы] - Za soc. zemědělství **4** : 551—552, 1954.
Huber, J. A.: Vererbungsstudien an Gerstenkreuzungen. II. Zur Genetik der Gerstenähre. - Zeitschr. f. Pflanzenzüchtung **16** : 394—464, 1931. Цит. по Smith (1951).
Christiansen-Weniger, F.: Über die Modifizierbarkeit der Form der Weizenähre durch die Jahreswitterung und erster Bericht über eine Variabilis-Mutation bei Weizen. — Zeitschr. f. Pflanzenzücht **11** : 315. Цит. по Rod и Vřeský (1953).
Jirásek, V.: Teratologický zjev v květenství pšenice polské (se srovnáním s tzv. „divotvornou pšenicí"). [Тератологическое явление в соцветии польской пшеницы (по сравнению с т. нз. «дивотворкой»] - Čs. bot. listy **4** : 99—102, 1951.
Mitscherlich, A.: Über künstliche Wundereährenbildung. Zeitschr. f. Pflanzenzüchtung- **7** : 101, 1920. Цит. по Rod и Vřeský (1953).
Rod, J., Vřeský, F.: Šlechtitelská hodnota větevnatých klasů ozimého žita, získaných výživou. [Селекционное значение ветвистых колосьев озимой ржи, вызванных питанием]- Sborník ČSAZV, řada A **26** : 371—385, 1953.
Smith, L.: Cytology and genetics of barley. Botan. Review **17** : 1—51, 133—202, 285—355, 1951.
Tschermak, E.: Über Züchtung neuer Getreiderassen mittels künstlicher Kreuzung (Kritisch-historische Betrachtungen). - Zeitschr. Landw. Versuchs. Österr., **1901** : 1029—1060. Цит. по Smith (1951).
Veideman, M. G.: A contribution to the genetics and morphology of barley. On the genetic nature of the lateral spikelets of barley. — Bull. Appl. Bot., Genet. a. Plant Breed. **17** : 3—70, 1927. Цит. по Smith (1951).

Josef Nečas (Genetics Section of the Department of Plant-Physiology, Microbiology and Genetics, Charles University, Praha)

Heredity of the branched quality of rye spikes accompanied by multiplication of blossoms and inflorescence parts

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (1) : 65—74, 1961

In a hybridisation experiment, the hereditary fixation of mutations of a branched form of rye, characterized by an enlarged number of blossoms and inflorescence parts, was studied. It was found that the hereditary fixation of this form was monomerily recessive with respect to the rye sort Dobřenická trsnatá, the spike formation being normal. It was also shown that neither particularly good nor particularly bad soil conditions had any effect on the split ratio of 3 : 1 in the F_2 generation. The mutation form studied was stable within a very wide interval of soil and climatic conditions. We are probably dealing here with a stable disturbance in the morphogenetic process resulting in spike formation.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA)

3 (1) : 75—84, 1961

Inheritance of some Leaf Characters in *Salvia němecii* HBÝ

KAREL HRUBÝ

Department of Genetics, Faculty of Science, Charles University, Praha*

Received June 3, 1960

Dědičnost některých charakteristik listů u *Salvia němecii* HBÝ.

Mezidruhový hybrid *Salvia němecii (S. nutans* × *S. jurišićii)*, popsaný autorem již dříve, je plně plodný. Proto byly na 238 rostlinách F_2 generace sledovány tyto znaky: typ svazků cévních v řapíku, poměr délky řapíku k délce čepele, délkošířkový index čepele listové a členitost čepele, vyjádřená poměrem ideální obrysové plochy listu k jeho skutečné ploše. Všecky tyto charakteristiky srovnány se situací u rodičovských druhů i F_1 hybrida. Bylo zjištěno:

1. Typ II svazků cévních je jednoduše a úplně dominantní nad typem III (štěpný poměr 172 : 66, $\chi^2_{(1)} = 0{\cdot}94$, $P \doteq 0{\cdot}35$).

2. Všechny vnější morfologické znaky jsou založeny polygenně. Štěpení v F_2 je velmi široké a extrémní typy přesahují hodnoty u rodičovských druhů.

3. Typ svazků cévních se dědí nezávisle na vnějších morfologických znacích. Průkazné korelace zde nebyly zjištěny.

4. Vnější morfologické znaky mezi sebou jsou však průkazně korelovány. Zvláště je kladná korelace mezi délkou řapíku a členitostí čepele ($r = 0{\cdot}31$) a záporná korelace mezi členitostí čepele a délkošířkovým poměrem ($r = -0{\cdot}42$). Lze z toho vyvodit, že menší část příslušných polygenních systémů je ve vazbě, tj. lokalisována v tomtéž chromosomu. Většina jich se však dědí vzájemně nezávisle.

Summary

As the species hybrid *Salvia němecii* (= *S. nutans* × *S. jurišićii*) is highly fertile, genetic analysis of the segregating F_2 generation has been carried out. In 238 plants of F_2 the following leaf characters were investigated: type of the vascular bundle course in the petiole, the ratio of the petiole to leaf blade length, the ratio of the length of the leaf blade to the breadth, and the segmentation of the leaves, i.e. ratio between an ideal contour surface and the actual surface of the leaf blade. All these characteristics were compared with those of the original parental species as well as of the F_1 generation. It was found that:

* *Address*: Přírodovědecká fakulta KU, Viničná 5, Praha 2.

Fig. 1. Leaves of *S. nutans* (left), *S. němecii* (right above) and *S. jurišićii* (right below). Reduced 1 : 3.

1. Type II of vascular bundle course has simple dominance over type III (segregating ratio172 : 66, $\chi^2_{(1)} = 0{\cdot}94$, $P \doteq 0{\cdot}35$).

2. All morphological characteristics of the leaves behave as though governed by polygenic systems. The segregation in F_2 is always very wide and the extreme segregants exceed the values present in both parental species.

3. The type of vascular bundle course in the petiole is inherited independently of the morphological signs of the leaves. There is practically no correlation between vascular bundle type and any of the morphological ratio indices.

4. Between the morphological characters, on the other hand, there are significant correlations, especially between the length of the petiole and segmentation of the leaf ($r = 0{\cdot}31$), and between the segmentation and the length-breadth ratio ($r = -0{\cdot}42$). Therefore, some of the polygenes concerned may be linked together, i.e. localized in the same chromosome, but most of them are transferred independently.

Introduction

Salvia němecii is an interspecific hybrid from the section *Plethiosphace* between the Pontic species *S. nutans* L. and the Macedonian endemic species *S. jurišićii* Koš. This hybrid is remarkable for the fact that it has been repeatedly obtained several times since 1931, when it first appeared. In all instances, though parental plants of different origin were used, the hybrids were quite identical. The results of reciprocal crosses have also been quite the same. *S. němecii* has already been thoroughly described (HRUBÝ, 1933, 1935); its cytological investigation has also been published (HRUBÝ, 1948). Owing to nearly normal meiosis, it is relatively highly fertile, thus offering the possibility of further genetic analysis of different characters. It appears to be intermediate between the parental species, which is a characteristic of interspecific hybrids in general.

In the present paper attention will be paid to leaf characters, namely to some morphological and anatomical signs and to their mutual relations. As shown in fig. 1, the leaves of *S. němecii* look intermediate in general, as well as in total size, in length of the petiole and especially in their segmentation. The general appearance of the leaves cannot, however, be estimated as a single

character, but the inheritance of individual component characters should be followed separately. An extremely wide segregation in the F_2 generation, which in extreme cases exceeds the parental forms, does not point to a simple hereditary basis, but indicates a more cŏmplicated one of a polygenic type.

Fig. 2. Types of vascular bundle course in the petiole: type II at left, type III at right.

Besides external morphological signs, the course of the vascular bundles in the leaf petiole is very typical for different species of the genus *Salvia*. On a cross-section the petiole is usually semicircular, with two lateral edges and a variably shallow ridge between them on the upper side. Big strips of collenchyma always run in the edges, followed by chlorenchyma underneath. The body of the petiole is filled with parenchymatic tissue in which the vascular bundles are situated. In all species belonging to all sections,one vascular bundle runs immediately at the side of each lateral collenchyma strip. Between these bundles and the main conducting system in the centre of the petiole there may lie one or two small bundles. This depends on the massiveness of the petiole. In all the structures just mentioned there are no substantial or characteristic differences between species from different subgenera and sections. Very characteristic are, on the other hand, the vascular bundles in the centre of the petiole, and their arrangement. One or more vascular bundles may run along here. They are oriented by their bast parts to the lower side of the petiole and by the woody part towards the upper ridge. According to the number and arrangement of these vascular bundles, four general types with several subtypes may be distinguished. These types are characteristic for subgenera, sections and even species of the genus *Salvia*, as already stated earlier (Hrubý, 1955).

Fig. 3. Schematic drawing showing the methods of getting ratio indices of the morphological signs of the leaves.

In the section *Plethiosphace* the basic types II and III occur (see fig. 2). The parental species of our hybrid differ in the type of their petiolar vascular bundle course. In *S. nutans* there is type III, whereas *S. jurišićii* is characterized by type II. In the hybrid *S. němecii*, type II was always found, thus showing a preponderance over type III. In the present paper the question

will be dealt with of whether this is due to a simple dominance or to a more complicated inheritance of this anatomical character. Further mutual relations between this sign and single external morphological characters of the leaves will be investigated, as well as correlations between these morphological signs themselves.

Material and Methods

The total number of investigated plants of the F_2 generation was n = 238. At least one characteristic leaf was taken from each plant. A cross-section through the petiole was made in the fresh state, this section being precisely in the middle of the petiole. The type of vascular bundle course was determined on this section. Afterwards each leaf was put into a parchment envelope of appropriate size, on which the type was noted and the number of the respective plant. After pressing and drying, the contours of the leaves were carefully drawn. In each leaf three characteristics were evaluated separately: 1. The length of the petiole, 2. the shape of the general contour, 3. the segmentation of the leaf blade.

As leaves of individual plants differ considerably in size, it is necessary to compare relative values of the ratio indices. These indices were calculated in the following manner (see fig. 3). The length of the petiole is characterized by the ratio of the length of the leaf blade (A) to the length of the petiole (B), thus $i_1 = \frac{A}{B}$. Since the petioles were halved for determining the anatomical structure, the length of petiole measured on the actual drawing should be multiplied by two. The contour shape of the leaf was expressed by the length/breadth ratio of the ideal leaf blade, $i_2 = \frac{A}{C}$.

Most difficult to express exactly is the degree of segmentation of the leaf. Comparable values may be offered again by a ratio index of the ideal surface of a complete, entire leaf of the given size and shape to the actual surface of this leaf. Therefore, in each drawing of the leaf its ideal entire contour was also drawn. Then, by means of a planimeter, the area limited by this line was measured and this value divided by the area of the actual leaf (which is black on fig. 3). The respective index is therefore obtained $i_3 = \frac{\text{White area}}{\text{Black area}}$. (The white area includes the black one, of course.) When several leaves were measured from the same plant, the mean value of individual indices was calculated. Each of the 238 plants was therefore characterized by three indices and the type of vascular bundle course. In the same way the respective indices of both parental species and the F_1 hybrid were obtained.

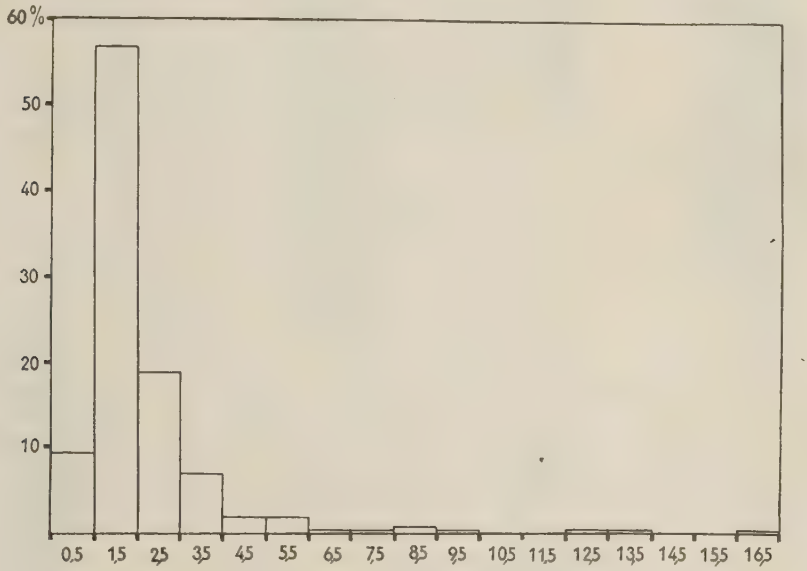
First, each of the characteristic values was judged separately. The arithmetic mean, with standard error, was calculated and the extent of variability estimated by means of the coefficient of variation. The diagrams are in the form of percentage histograms, the values of indices being grouped in whole units. Further, correlations between the type of vascular bundle course and single morphological indices were calculated, as well as mutual correlations between these indices.

Results and Discussion

1. Type of vascular bundle course. In *S. němecii* type II occurs. In F_2 172 plants had type II, and 66 plants type III. The empiric ratio 172 : 66 compared with the theoretical one on a 3 : 1 supposition gives the value of $\chi^2_{(1)} = 0{\cdot}94$, to which corresponds the probability $P = 0{\cdot}35$. From this it follows that the difference between type II and III is based monofactorially,

with a complete dominance of type II. This is an interesting instance of simple Mendelian inheritance in an anatomical character.

2. Length of petiole. The parental species *S. nutans* has leaves with very long petioles, the ratio index $i_1 = 1{\cdot}28 \pm 3 \,.\, 0{\cdot}11$. The variation spread is relatively small, the coefficient of variation being $v = 16{\cdot}40$. The second parental species *S. jurišićii* has, on the contrary, the basal leaves shortly petiolate, the axial leaves very shortly petiolate to completely sessile. Though

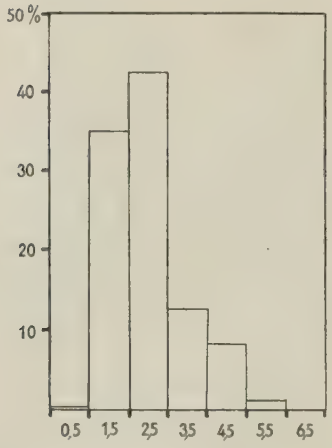


Diagr. 1. A histogram showing segregation of values of petiole length index in F_2 plants.

only the lowest leaves were taken for getting the index, this species displays a much wider—approximately twice—degree of variability, $v = 36{\cdot}30$, the index itself $i_1 = 7{\cdot}11 \pm 3 \,.\, 1{\cdot}15$. Their hybrid, *S. němecii*, does not show intermediarity in this sign, but a considerable preponderance of the character of the species *S. nutans* occurs. The leaves have quite long petioles, though not to such a degree as in the parental species *S. nutans* itself. The value of the index is here $i_1 = 1{\cdot}75 \pm 3 \,.\, 0{\cdot}14$. At the same time the spread of variability remains relatively small, $v = 19{\cdot}45$, only a little larger than in *S. nutans*.

In the F_2 generation a very wide segregation takes place, and the extreme values in both directions exceed the index values of the parental generation. The lowest value of the index has been found to be 0·64, or a leaf with petiole nearly twice as long as the blade, whereas the second extreme value was 16·76 which characterizes a nearly sessile leaf. The coefficient of variation also corresponds to this amplitude, reaching an extraordinary high value $v = 87{\cdot}15$. But the mean value of the index $i_1 = 2{\cdot}18 \pm 3 \,.\, 0{\cdot}12$ does not differ much from the average of the preceding generation, and the modal

value is actually in accordance with it (see diagr. 1), as the variation class of the mean value 1·5 is frequented by 57·2 per cent. The value of this index in the F_1 generation lies in the same class. It may therefore be assumed that the ratio of the petiole length to the leaf blade length is probably inherited, but governed by a large number of units of polygenic character, with a certain preponderance of those inducing a longer petiole. The parental species themselves do not represent the extreme combinations of these multiple factors.



Diagr. 2. A histogram showing segregation of values of length/ /breadth index in F_2 plants.

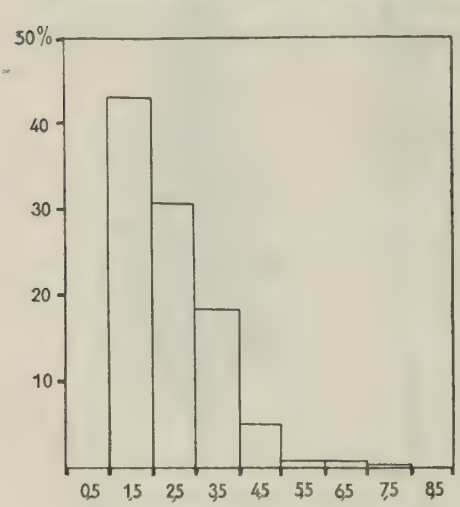
3. Shape of leaf contour. This character is evaluated by means of the length to breadth index. In the first parental species *S. nutans* the leaves are narrow and long ovate, as expressed by $i_2 = 2{\cdot}16 \pm 3 \,.\, 0{\cdot}17$. The variation amplitude is again relatively small, $v = 16{\cdot}22$. *S. jurišićii* has the leaf contour broadly ovate to cordate, $i_2 = 1{\cdot}63 \pm 3 \,.\, 0{\cdot}15$ and the spread of variation is here a little larger, $v = 20{\cdot}24$. The hybrid *S. němecii* conforms in leaf contour almost completely to its parent *S. jurišićii*: $i_2 = 1{\cdot}62 \pm 3 \,.\, 0{\cdot}07$ and displays in this character considerable uniformity, the variation coefficient value being smaller than in both parental species, $v = 11{\cdot}27$.

In the F_2 generation the segregation again surpasses the values of the parental generation. There were plants with very narrow, nearly lanceolate leaves, having an index value 5·62, whereas the second extreme was represented by leaves nearly reniform, broader than long, their index value being 0·99 Most plants have leaves broader than F_1, 42·4 per cent are characterized by an index within the limits of 2 and 3 (see diagr. 2), therefore the mean value of the index is also $i_2 = 2{\cdot}45 \pm 3 \,.\, 0{\cdot}06$. The variation spread — $v = 39{\cdot}19$ — is approximately twice that of the more variable progenitor, and four times that of the F_1 generation. This result suggests the following explanation. The leaf contour is again inherited in a complex manner, and a group of factors conditioning a greater breadth of the leaf may somehow be linked together. Thus there are higher frequencies of classes having higher indices than would be expected by free distribution and an independent polygenic basis.

4. Segmentation of leaves. In this character the greatest differences occur between the original parental species (see fig. 1). *S. nutans* has leaves nearly entire, only slightly crenate-denticulate, and is quite constant in this character. This is shown also by the very minimal variability, as the coefficient of variation has the value of only $v = 1{\cdot}92$. A comparison of an absolutely entire ideal leaf contour with the actual situation, expressed by the ratio of these two surfaces (ideal : actual), gives the index $i_3 = 1{\cdot}08 \pm 3.0{\cdot}016$. The leaves of the species *S. jurîšićii*, on the other hand, are deeply and simply pinnate, the pinnation nearly reaching the central nerve. The linear segments sometimes show traces of further pinnation. The surface index is $i_3 = 3{\cdot}92 \pm$

Fig. 4. Several leaves of F_2 segregating plants. Extreme and extraordinary, unexpected forms Reduced 1 : 2.

$\pm$ 3 . 0·33 and the variation spread is relatively small, the coefficient of variation having a value v = 16·85. *S. němecii* appears quite intermediate in this character. The leaves are broadly and deeply pinnatipartite and considerably uniform, and the coefficient of variation is small, v = 15·52. The surface index itself has an intermediate value i_3 = 2·29 $\pm$ 3 . 0·14. This value lies just between the arithmetic (2·50) and geometric (2·10) mean of the values of both parental species.



Diagr. 3. A histogram showing segregation of values of index of leaf segmentation in F_2 plants.

The segregation in F_2 is extremely diverse and even the surface index cannot express its morphological diversity. Here plants may be found with leaves nearly entire, others with leaves lobate, dentate, pinnatifid, pinnatipartite to narrow pinnatisect with fine denticulation. A certain picture of this diversity is presented by fig. 4, where extreme cases are drawn together with some unusual forms. The mean value of the surface index does not differ much from that of *S. němecii* (F_1), being i_3 = 2·45 $\pm$ 3 . 0·07, but the amplitude of variability is much greater, the value of the coefficient being v = 43·75. The situation of the original parental species is not surpassed in the direction towards entirety, because the index value here is nearly 1 (i.e. 1·08). In the other direction however, the index value is twice as high, as in one plant an index of 7·27 was found. As demonstrated in diagr. 3, the most frequented class—by 42·8 per cent—is that having the index value within the limits of 1 and 2. The variation curve would be of a half-curve type.

When we take into consideration the results mentioned above, the segmentation of leaves may again be considered as an inherited character, governed by polygenes. The similarity of the mean values in F_1 and F_2 generations, as well as the intermediate character in F_1, point most likely to a free, partly additive, partly multiplicative action of polygenes concerned. One of the original parental species represents, however, the minimal dose of the effective genotype; therefore its value cannot be transgressed and the variation curve of the F_2 generation is a half-curve. But this minimum could also have been reached by the action of inhibiting factors in the heterozygous condition, the segregation of which makes it possible for F_2 to surpass considerably the extreme value in the opposite direction. This possibility is also strengthened by the modal character of the lowest variation class.

A complete survey of all morphological characters of the leaves of both parental species and in F_1 and F_2 generations is presented in Table 1.

5. Correlations. Between the type of vascular bundle course and individual morphological characteristics, the correlation coefficients have always been

Table 1. Mean values of morphological indices and their spread of variation in all three generations

	i_1	v	i_2	v	i_3	v
S. nutans (P_1)	1·28	16·40	2·16	16·22	1·08	1·92
S. jurišićii (P_2)	7·11	36·30	1·63	20·24	3·92	16·85
S. němecii (F_1)	1·75	19·45	1·62	11·27	2·29	15·52
F_2	2·18	87·15	2·45	39·19	2·45	43·75

found to be below the limit of significance. Their values are so minute that no correlation can be conceded between these signs. (Length of petiole/vascular bundle type r = 0·01, segmentation/vascular bundle type r = —0·06, only in length-breadth index/vascular bundle type is the coefficient a little larger, r = —0·12 ± 3 . 0·064, but this value is not significant either at the P = = 0·05 level.) Thus no linkage relations can be assumed between the gene responsible for the type of the vascular bundle course in the leaf petiole and the polygenic systems governing external morphological characters of the leaves. This gene must be localized in a different chromosome from those polygenic complexes.

On the contrary, if we consider the mutual relations of single ratio indices characterizing external morphological features of the leaves, we always get values of coefficients which are significant or even highly significant. The weakest correlation was found between the length of the petiole and the contour shape of the leaf i_1/i_2, r = —0·15 ± 3 . 0·064. This negative correlation, though small, is statistically significant and means that in F_2 plants there is a slight preponderance of leaves which are narrow and have a longer petiole and, on the contrary, a tendency to more sessile leaves, having also a broader blade. Between the length of petiole and the segmentation of leaves i_1/i_3 a highly significant correlation was found, viz. r = +0·31 ± 3 . 0·061, which indicates that leaves with longer petioles are less divided, whilst more sessile leaves are more segmented. The strongest, highly significant, negative correlation was determined between the segmentation of the leaf and its length-breadth index i_3/i_2. Here r = —0·42 ± 3 . 0·059. That shows that the narrower leaves are more entire, and on the contrary, the broader leaves are more divided.

All these three correlations are markedly expressed in the original parental species. Correlations between partial characteristics suggest a possibility of some linkage between their genotypic bases. Since in all cases there are polygenic systems, it could be formulated in such a way that a certain fraction of the number of polygenes participating in manifestation of a couple of characters may be located in the same chromosome. The greater part, however, are localized in different pairs of chromosomes.

References

HRUBÝ, K.: Preliminary report on *Salvia nutans* L., *S. jurišićii* Koš. and the probable hybrid thereof. — Journ. of Genetics **27** : 471—482, 1933.

HRUBÝ, K.: Some new *Salvia* species hybrids, their description and analysis. — Stud. Plant. Physiol. Lab. Charles Univ. **5** : 1—73, 1935.

HRUBÝ, K.: The cytology of the species hybrid *Salvia němecii* HBÝ. — Journ. of Genetics **48** : 316—326, 1948.

HRUBÝ, K.: Anatomické znaky při taxonomickém hodnocení [Anatomical characters from the taxonomical point of view]. — Preslia **27** : 348—353, 1955.

Карел Грубы (Отдел генетики Естественного факультета Карлова Университета, Прага)

Наследование некоторых признаков листьев у *Salvia němecii* HBÝ

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (1) : 75—84, 1961

Межвидовой гибрид *Salvia němecii* (*S. nutans* × *S. jurišićii*) описанный автором уже раньше, плодоносит совершенно нормально. Поэтому на 238 растениях генерации F_2 были исследованы следующие признаки: тип сосудистых пучков в черешке, отношение длины черешка к длине листовой пластинки, индекс длины и ширины пластинки и степень расчленения листа, выраженная отношением идеальной площади листовой пластинки к его действительной площади. Все эти характеристики сравнивались с положением у родительских видов и F_1 гибрида. Было обнаружено:

1. тип II сосудистых пучков полностью доминирует над типом III (расщепление происходит в отношении 172 : 66, $\chi^2_{(1)} = 0{,}94$, $P \doteq 0{,}35$),

2. все внешние морфологические признаки основаны полигенно. Расщепление в F_2 очень широкое и крайние типы превышают соответствующие величины у родительских видов,

3. тип сосудистых пучков наследуется независимо от внешних морфологических признаков. Доказательные корреляции здесь не были обнаружены,

4. внешние морфологические признаки между собой, однако, коррелируют, что можно доказать на примерах. Особенно положительна корреляция между длиной черешка и расчлененностью листа ($r = 0{,}31$) и отрицательная корреляция между степенью расчлененности листовой пластинки и отношением длины к ширине ($r = -0{,}42$). Из этого можно сказать, что меньшая часть соответствующих полигенных систем взаимосвязана, то есть локализована в той же хромозоме. Большая часть их наследуется без взаимной зависимости.

Fig. 1. *Senecio vulgaris* L.: left — healthy, right — infected with the clover phyllody virus (strain CP-8/58).

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 2 and 3. *Senecio vulgaris* L.: inflorescences of plants infected with the clover phyllody virus (strain CP-8/58).

Fig. 4. *Taraxacum officinale* WEB.: healthy control.

Fig. 5. *Taraxacum officinale* WEB.: plant infected with the clover phyllody virus (strain CP-10/58).

Fig. 6. *Vinca rosea* L.: plant infected with the clover phyllody virus (strain CP-1/59).

Fig. 7. *Thlaspi arvense* L.: plant infected with the clover phyllody virus (strain CP-1/59).

Fig. 2. Autoradiograms illustrating the distribution of foliar and root absorbed P^{32} in *Taxus cuspidata*. (A, foliar absorbed — after 3 days; B, root absorbed — after 3 days; and C, root absorbed — after 12 days.)

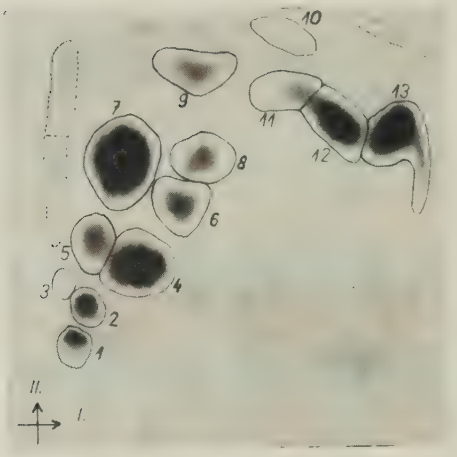


Fig. 1.

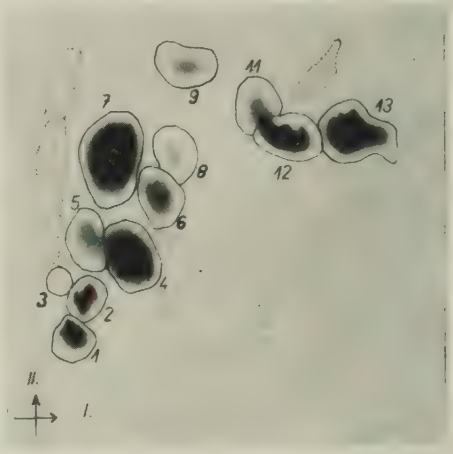


Fig. 2.

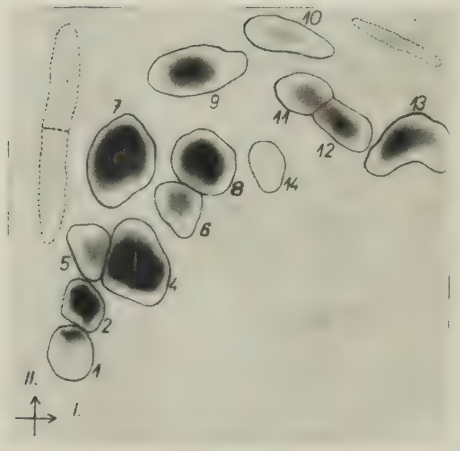


Fig. 3.

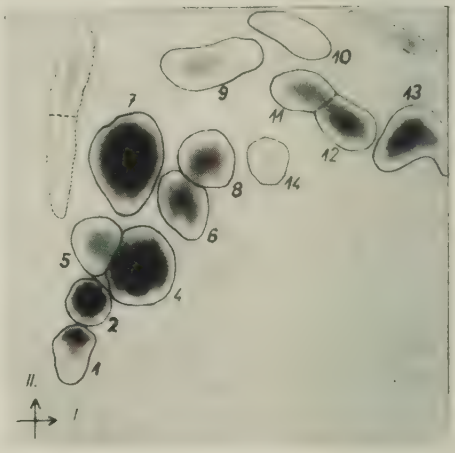


Fig. 4.

Examples of chromatograms of free amino acids from compatibly and incompatibly pollinated *Nacotiana alata* styles.

Experiment 1b, basal parts of styles, 2 days after pollination, allogamy (Fig. 1), autogamy (Fig. 2).

Experiment 2a, basal parts of styles, 60 hours after pollination, allogamy (Fig. 3), autogamy (Fig. 4).

Applications of 50 μl. (33% homogenates).

I. — n-propanol : water; II. — phenol saturated with water.

1 = ASP, 2 = GLU, 3 = LYS, 4 = SER, 5 = ASP NH_2, 6 = THR, 7 = GLU NH_2, 8 = =ALA, 9 = γ-AB, 10 = PRO, 11 = PHE, 12 = VAL, 13 = LEU, 14 = TYR.

Фот. 1. Выщепляющиеся типы колоса в F_2 поколении:
1. Ветвистый тип колоса (1-ая родительская форма), 2. Тип колоса F_1 поколения, 3. Нормальный тип колоса (2-ая родительская форма).

biologia plantarum

Časopis pro experimentální botaniku
Journal for Experimental Botany
Журнал экспериментальной ботаники
Zeitschrift für experimentelle Botanik

BIOLOGIA PLANTARUM (Journal for Experimental Botany) publishes original scientific papers and brief communications from the fields of plant physiology, experimental ecology, genetics, cytology, experimental morphology, biochemistry and pathology. Articles are published in the most important languages. The authors bears the full responsibility for the originality of the paper submitted. Only such contributions will be accepted which contain original results not submitted for publication elsewhere. All contributions are subject to a consideration by the referees and by the Editorial board. The author must give serious consideration to the referees' comments. The original copy and the first carbon copy along with original illustrations and tables should be sent to Dr. Bohdan Slavík, Biologický ústav ČSAV, Praha 6, Na cvičišti 2, Czechoslovakia.

Papers should be in double-spaced typing throughout, i.e. including footnotes, figure legends, tables and references. Each table, figure legends and references should by typed on a separate sheet of paper. The length of a paper should not exceed 10 printed pages, including figures, tables and references, one printed page being approximately equal to two double-spaced typewritten ones (foolscap size). In aranging the manuscript and the references attention should be paid to the usage of recent editions of BIOLOGIA PLANTARUM. In addition to the author's name his full present address should appear. A summary in Czech, written as a self-contained abstract (objective of the work, short account of methods and material, results and conclusions) will precede the text of each paper. The length of the abstract should never exceed 20 type-written lines. Its text will also be sent by the editors to foreign abstracting journals. Foreign authors shall submit the abstract in the language of the paper.

Each paper should be introduced by a concise Summary, including an account of new findings. This summary, including its translation placed at the end of the paper, should not exceed 60 type-written lines. The following Introduction should be quite brief and include the presentation of the problem to be investigated. Only those papers may be quoted which are in direct contact with the submitted contribution, not those of historical interest only. Scientific latin names (always with authority) and names of persons should not be specially marked by the author in the manuscript. If the author has any suggestions as to the size or species of type (garmond, petit etc.) he should make a note on the margin of the sheet. The final decision shall be made by the editors.

Tables must be arranged and described in such a way that they be comprehensible without referring to the text. Each table should bear a number and a title.

Diagrams should be in Indian ink and drwan on Bristol board or tracing cloth, surrounded by a frame and should have the following sizes: length of the base 12 cm., diameter of experimental points 3 mm., or length of the base 18 cm., diameter of points 4 mm. The text should only be given in pencil. Figure captions and legends should be typed separately.

Photographs should be printed on glossy paper and should be in sharp focus with good contrast. The author's name, the figure number and the top of the figure should be indicated on the reverse side of all illustrations.

References in text should contain author's name followed by the year of publication, e.g. Björn and Virgin (1958), or (Björn and Virgin 1958). References at the end of the paper should be arranged alphabetically as follows:

Björn, L. O., Virgin, H. I.: The influence of red light on the growth of pea seedlings. An attempt to localize the perception. — Physiol. Plant. **11** : 363—373, 1958.

In quotations of papers in Russian alphabet which shall be arranged separately according this alphabet the author's name, the journal and the title of the paper shall appear also in corresponding transliteration and a translation of the title shall be attached. If the original paper has already a foreign-language summary, the author is requested to give its title.

Знаменский, И. Е.: Физиологическая и биохимическая характеристика ксерофитов. — Экспер. ботаника 6 : 93—146, 1948. [Znamensky, I. E.: Physiological and biochemical characteristics of xerophytes.]

Similarly, quotations of papers published in less common languages shall be provided with a translation of the paper title in addition to the original.

The author receives one or two proofs of his paper. The manuscript is held to represent the final text of the paper, the proofs serving only to correct typographical errors. The proofs must be returned within two days, otherwise the author's corrections cannot be considered.
The author may obtain 70 reprints without charge.

INDEX

J. J. Tupý: Changes in Glucose and Fructose Level in *Nicotiana alata* Styles and Ovaries Accompanying Compatible and Incompatible Pollen Tube Growth 1

Л. Хвойка: Влияние плодов на осмотическое давление клеточного сока листьев и закладку цветочных почек у яблони 15

M. Musil: Transmission of the Clover Phyllody virus by means of the Leafhopper *Euscelis plebejus* (Fallen) 29

C. Blattný: La variabilité du niveau du virus de la jaunisse chez *Allium ampeloprasum* L. subsp. *porrum* L. (Regel) 34

M. J. Bukovac and H. Davidson: Absorption and Distribution of Sodium, Phosphorus, Chlorine, Calcium and Zinc in Some Selected Woody Ornamentals 39

J. Tupý: Investigation of Free Amino-acids in Cross-, Self- and Non-pollinated Pistils of *Nicotiana alata* 47

Й. Нечас: Наследственность ветвистости колоса ржи сопровождаемой умножением цветков и частей цветков 65

K. Hrubý: Inheritance of some Leaf Characters in *Salvia němecii* Hrý 75

The following papers are being prepared for the next issue:

J. Krekule: The Length of the First Leaf-Blade of Winter-Wheat is not an Indicator of Vernalization

J. Dvořák: Formation of Secondary Xylem in Apricots *Prunus armeniaca* L. without the Participation of Developing Buds

J. Krekule: Application of Some Inhibitors in Studying the Physiology of Vernalization

A. Konětopský: The Size of Guard Cells of Stomata of a Natural Polyploid Series of the Genus *Triticum* L.

O. Makovcová and P. Vaculík: Untersuchungen über die Wirkung einiger 1,2,4-Triazolderivate auf das Wachstum der Keimlinge von *Synapis alba* L.

M. Ulrychová, C. Blattný: L'action synérgique de la Simazine et des viroses de plantes en tant que méthode de la détection éventuelle des maladies à virus

I. Hršel, B. Wolfová and H. Mohelská: Electron Microscopic Investigation of Cytoplasm of Scutellar Cells of a Young Wheat Embryo

J. Brčák, I. Hršel: The Electron Microscopic Examination of Inclusions of Cucumber virus 4

B. Hořavka: Microphotography of Phases in the Development of Apple Flower Buds

Л. Хвойка, К. Верещ, Я. Козел: Влияние кининов на рост почек яблони и на включение P^{32}.

BIOLOGIA PLANTARUM — Published for The Biological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences (Praha 6-Dejvice, Na cvičišti 2, dod. pú. 6) by The Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences (Praha 1-Nové Město, Vodičkova 40, dod. pú. 1). 4 issues a year. — Annual subscription Kčs 30,—, $ 3,20, £ 1, 2, 10. Single copies Kčs 7,50. — Printed by Knihtisk, n. p. závod 4 (Praha 10-Vršovice, Sámova 12, dod. pú. 101). — Orders from abroad should be addressed to: ARTIA, Praha 1-Nové Město, Ve Smečkách 30, dod. pú 1. — Distributed by The Newspaper Mail Service — This number has been issued in January 1961.

© BY NAKLADATELSTVÍ ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE VĚD 1961

„БИОЛОГИЯ ПЛАНТАРУМ" — орган Института биологии Чехословацкой АН, На Цвичишти 2, Прага 6-Дейвице, п/о 6, Издательство Чехословацкой АН, Прага 1-Нове Место, Водичкова 40, п/о 1. Журнал выходит 4 раза в год. Подписная цена на год: Кчс 30,—, $ 3,20, £ 1, 2, 10. Цена отдельного номера Кчс 7,50. Печатается в типографии 4 нац. предприятия „Книгтиск", Прага 10-Вршовице Самова 12, п/о 101. Заказы из-за границы: „АРТИА", Прага 1-Нове Место, Смечки 30, по/о 1. — Распространяет „Поштовни и новинова служба" (Почтовая журнальная служба.) — Настоящий номер выпущен в январе 1961 г.

© ИЗДАТЕЛЬСТВО ЧЕХОСЛОВАЦКОЙ АКАДЕМИИ НАУК 1961